

LOKALISATION VON SALMONELLA
TYPHIMURIUM IM HÜHNEREMBRYO NACH
EXPERIMENTELLER EIINFEKTION

BERND OCHSENHIRT

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551921_0098

Aus dem Institut für Krankheiten des Haus- und Wildvögel
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Professor Dr. I. Gylstorff

Lokalisation von *Salmonella typhimurium* im Hühnerembryo
nach experimenteller Eiinfektion

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Bernd Ochsenhirt
aus Friedberg

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Prof. Dr. I. Gylstorff
Korreferent: Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 26. Juli 1974



Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Literatur	2
Versuchsplan	19
Material und Methodik	20
I. Bruteier	20
II. Bakterienstamm	20
III. Nährböden	20
IV. pH-Meter	22
V. Vorbehandlung des Ausgangsstammes und Erregernachweis	22
VI. pH-Wert-Messung in vivo und in vitro	23
Ergebnisse	24
I. Versuchsreihe 1-10	24
II. Versuchsreihe 11	39
III. Säuretoleranz in vitro	40
IV. pH-Wert-Messung	40
Diskussion	46
Zusammenfassung	50
Summary	51
Literaturverzeichnis	52
Lebenslauf	74

E i n l e i t u n g

In den letzten Jahrzehnten sind Salmonellen (S.) vermehrt bei Mensch und Tier isoliert worden. Dabei sind Isolationen humanspezifischer Typen wie *S. typhi* und *S. paratyphi* rückläufig, während eine Vielzahl anderer Species (sp.) neben den bereits seit langem in Mitteleuropa endemischen, wie *S. typhimurium*, *S. dublin*, *S. enteritidis* etc. zunehmend gefunden werden (CLARENBURG 1961).

Das Hausgeflügel gilt als eines der vielen Reservoirs für menschliche Infektionen. Das Ausmaß der Übertragung ist umstritten, doch soll sie nach WILLIAMS (1972) beachtlich sein.

Aus dem Jahresbericht des Bundesgesundheitsamtes (BGA) für 1972 geht hervor, daß im genannten Jahr 29 verschiedene *S. spp.* aus Geflügel isoliert werden konnten. Die Einfuhr solcher, nicht einheimischer Stämme durch infizierte ausländische Eiweißfuttermittel wird von BULLING (1963) und PIETZSCH (1970) diskutiert.

Epizootologisch spielt bei den Salmonellosen des Geflügels die Eiübertragung neben der horizontalen Infektion eine beachtliche Rolle.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, wie sich *S. typhimurium* nach experimenteller Infektion des Bruteis während der Brutperiode verhält.

L i t e r a t u r

Das Genus *Salmonella* besteht aus vier Subgenera mit über 1000 Species. Die Unterscheidung der einzelnen Species geschieht nach dem Kauffmann-White-Schema durch die serologische Bestimmung von Antigen-Faktoren (KAUFFMANN 1966a). Daneben wird zur Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge auch die Phagentypisierung herangezogen (ANDERSON 1964).

Die vom Geflügel stammenden Salmonellenarten gehören überwiegend dem Subgenus I an, nur bei der Pute werden auch gehäuft Stämme des Subgenus III gefunden (GREENFIELD et al. 1971).

Nach der weitgehenden Eliminierung von *S. gallinarum-pullorum* ist in der Bundesrepublik Deutschland *S. typhimurium* beim Geflügel die am häufigsten isolierte Species (BGA 1972). Sie kommt als vollantigener Stamm besonders bei Huhn, Pute, Gans und Ente vor (WILLIAMS 1972), während die Minusvariante "copenhagen" überwiegend bei Tauben und Finkenvögeln zu finden ist. (ENGLERT et al. 1967, KÖSTERS & SCHEER 1967, SCHNEIDER & BULLING 1969 und WILLIAMS 1972).

S. typhimurium hat die Antigenformel 1,4,5,12:i:1,2 (Minusvariante 1,4,12:i:1,2) (KAUFFMANN 1966a) und ist biochemisch nach COSTIN (1968) definiert durch:

Cytochromoxydase	-	
Glukose	+	(mit Gasbildung)
Laktose	-	
H ₂ S	+	
Indol	-	
Ammoniumcitrat	+	
Voges - Proskauer	-	
LDC	+	
Harnstoff	-	
Beweglichkeit	+	

Abweichungen vom Typenbild (bezüglich Laktoseabbaufähigkeit, H₂S-Bildungsvermögen, Indolbildungsvermögen und Verwertbarkeit von Citrat als einzige Kohlenstoffquelle) werden von KAUFFMANN (1966a) und COSTIN (1968) beschrieben.

Die Salmonellen gelten generell als pathogen für Mensch und Tier, wobei jedoch erhebliche Unterschiede in Abhängigkeit von der jeweiligen S. sp. und vom betroffenen Wirt vorhanden sind. HENDERSON et al. (1959) untersuchen sieben verschiedene S. spp. auf ihre Pathogenität bei Eintarsküken und stellen eine sehr unterschiedliche Mortalitätsrate zwischen 2% bei S. anatum und 80% bei S. typhimurium fest. Nach VESTAL & STEPHAN (1966) zeigen sich nach experimenteller Infektion in der Dottersack erhebliche Unterschiede in der Pathogenität verschiedener Stämme bei Hühnerküken. STEPHENS & ANDERSON (1967) machen für diese Variabilitäten entweder die Qualität und Quantität der freigesetzten Endotoxine oder die unterschiedliche Adaptationsfähigkeit der Bakterien an die inneren Organe des Wirtes verantwortlich.

Die Pathogenität ist abhängig von der Fähigkeit des Keimes, im Wirt zu haften, sich dort zu vermehren und ihn krank zu machen (RALOVICH 1968a). Derselbe Autor (1968b) unterscheidet hochvirulente Stämme, die selbständig Schleimhautbarrieren penetrieren und sich jenseits einer solchen Schranke unbeschränkt vermehren können und avirulente Stämme, die nur über ein Penetrationsvermögen verfügen. Ihre Vermehrung jenseits der Barrieren ist nur bei einer Resistenzminderung des Wirtes möglich. Auch KAUFFMANN (1966b) definiert virulente Stämme als solche, die sich nach dem Eindringen im Organismus vermehren und pathologische Veränderungen hervorrufen können.

Umstritten ist die Frage der Persorption von Salmonellen nach oraler Aufnahme (ÖRSKOW & KOBAYASHI 1928).

Nach KELLNER (1956), PETER (1961), MEYNELI (1963) und MEYNELI & SUBBAIAH (1963) werden pathogene Enterobacteriaceae nach oraler Aufnahme in der Regel schnell wieder eliminiert. Dabei wird der intakten körpereigenen Darmflora eine entscheidende Bedeutung zugeschrieben, die die Ansiedelung "fremder" Stämme im Darmkanal verhindert.

Auch beim Geflügel läßt sich nachweisen, daß ein solcher Mechanismus wirksam sein kann. Nach GERLACH (1971) sind nach oraler, postnataler Infektion von Hühnerküken Salmonellen aus dem Kot nur ca. 14 Tage lang nachweisbar. Ist eine Infektion jedoch eiübertragen, der Keim also bereits vor Ausbildung der autochthonen Darmflora vorhanden, so erfolgt eine langanhaltende Ausbreitung der Infektion im Bestand. Die eiübertragenen Stämme werden nach dem Schlupf bei den Küken überwiegend im Duodenum und Jejunum gefunden und erst danach vermehrt auch im Caecum.

BROWNELL et al. (1969) finden nach oraler Infektion Salmonellen im Intestinaltrakt von Hühnern in 40% der Fälle in den oberen Abschnitten, in 87% sind die Blinddärme und caecalen Tonsillen infiziert, während bei zwei Hühnern der Erreger nur jeweils im Muskelmagen und in der Kloake isoliert wird. STELLMACHER (1963) weist nach oraler Aufnahme Salmonellen bei Schnellmastenten und Jungmasthühnern am häufigsten im Caecum und Rektum nach; Isolate aus dem Dünndarm gelingen nur selten.

Die biochemischen Mechanismen, die das Haften pathogener Salmonellen am Schleimhautepitel bedingen, sind noch weitgehend unbekannt. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von TAKEUCHI (1967) und TAKEUCHI & SPRINZ (1967) zeigen, daß bei Annäherung der Bakterien an die intestinalen Epithelzellen die Mikrovilli derselben in der unmittelbaren Nähe des Bakteriums degenerieren. Nach Passage durch die degenerierten Mikrovilli werden die Keime in der Zelle von invertierten Cytoplasmamembranen umgeben, ähnlich wie das auch bei Makrophagen nach der Phagozytose zu beobachten ist. Ein Abbau der Salmonellen innerhalb dieser sogenannten Vakuolen wird jedoch nicht gesehen. Die in den Vakuolen liegenden Salmonellen können die Zelle durchwandern und dann in die Lamina propria gelangen. Die Degeneration der Mikrovilli ist in der Regel reversibel. Ein anderer, weniger häufiger Mechanismus scheint die direkte Penetration in die

Lamina propria durch die Interzellularverbindungen der Epithelzellen zu sein.

Über das weitere Schicksal der in die Darmwand eingedrungenen vermehrungsfähigen Salmonellen gibt es zwei Hypothesen: einmal wird eine weitere Verbreitung auf lymphogenem Wege angenommen, zum anderen wird der Einbruch direkt in die Blutbahn diskutiert (RALOVICH & RAUSS 1969). Nach Auswertung der Literatur gelangen dieselben Verfasser (1969) zu der Ansicht, daß sich die Infektion im wesentlichen auf dem lymphogenen Weg ausbreitet. CSISZAR et al. (1965) untersuchten die Pathogenese der Salmonellose bei verschiedenen Tierarten einschließlich des Geflügels mit einem experimentellen Modell, bei dem zwar oral infiziert wurde, die normale Ösophaguspassage jedoch in Höhe des Larvnx unterbunden war. Diese Arbeit basiert auf Vorarbeiten von KRAUSS & HAPKE (1963) mit Meerschweinchen, bei denen eine Infektion durch orale Verabreichung von *S. typhimurium* unter Umgehung des Magen-Darmtraktes erfolgte. Der Erreger ließ sich trotzdem im Darm nachweisen. In Übereinstimmung mit diesen Autoren zeigen CSISZAR et al. (1965), daß *S. typhimurium* nicht nur in den lymphatischen Organen der Mund- und Rachenhöhle gefunden werden kann, sondern eine Generalisation erfolgt, die eine Rückisolierung des Erregers beim Huhn aus Caecum, Milz, Leber, Lunge und Eierstock gestattet. Die Absiedelung im Caecum gilt als ein Hinweis dafür, daß der Keim hier optimale Bedingungen findet.

Es ist bekannt, daß auch in vivo Salmonellen in die sogenannte L-Form übergehen können (HIJMANS et al. 1969). Nach GODZESKI et al. (1966) ist die Pathogenität grundsätzlich vermindert, der Keim jedoch gegen die spezifischen und unspezifischen Abwehrmechanismen des Wirtes, unter dessen Einwirkung die L-Form entstanden ist, relativ unempfindlich.

Seit Beginn der Wirtschaftsgeflügelhaltung ist die Bedeutung der Keimübertragung über das Brutei auf die nächste Küken generation bekannt. Außer *S. gallinarum-pullo-rum*, bei der eine vertikale Übertragung erstmals festgestellt wurde, (BEAUDETTE 1923 und BURR & HEIMROLDT 1962), können auch die anderen *S.spp.* eiübertragen werden. Inzwischen hat eine Vielzahl von Autoren diesen Infektionsweg bei *S. typhimurium*, *S. menston*, *S. thompson*, *S. bareilly* und *S. oranienburg* nachgewiesen. Ausführliche Untersuchungen älterer Autoren liegen vor allem bei Enten vor (HOLE 1932, DALLING & WARRACK 1932, Mc GAUGHEY 1932, WARRACK & DALLING 1933, SCHAAF 1933, WESSELMANN 1935, CLARENBURG 1939, DIERKS 1938, KARLSHØJ & SZABO 1949 und BLACKSLAND & BLOWERS 1951). Auch bei Hühnern (WILSON 1950, SMYSER & VAN HORKEI 1959, PHILBROCK et al. 1960, BECKER 1960, BOARD 1966, TAYLOR 1967 und SNOEYENBOS et al. 1969), Puten (CHERRINGTON et al. 1937, LEE et al. 1936, POMEROY & FENSTERMACHER 1939, HINSHAW & Mc NEILL 1943, GAUGER & GREAVES 1946 und MITROVIC 1956), Turteltauben (KAUFMANN 1966) und verschiedenen Wildvogelarten (NILSON 1960 und SNOEYENBOS et al. 1967) ist eine eiübertragene Infektion beschrieben worden.

Man unterscheidet nach MIEBNER & KÖSER (1934) eine primäre und sekundäre Eiübertragung:

Primär erfolgt die Infektion von Eidotter oder Eiweiß durch eine germinative Infektion der Follikel am Eierstock oder von der Schleimhaut des Eileiters ausgehend (LANG 1958).

Von sekundärer Übertragung wird gesprochen, wenn beim Legeakt eine Kontamination der Eischale und eine anschließende Penetration der Keime ins Eiinnere stattfindet.

Die primäre Infektion ist nach GERLACH (1969) auf zwei Wegen denkbar:

- a) hämatogen
- b) durch Kontakt mit einem infizierten Peritonäum oder Luftsack.

Die primär übertragenen *S. typhimurium* können, wie im Institut mehrfach nachgewiesen wurde, von der Vitellinmembran isoliert werden. Dies stimmt mit den Ergebnissen

von JERSTAD (1964) überein, der eiübertragene Mykoplasmen besonders häufig auf der Vitellinmembran nachweisen konnte. Aus den Arbeiten japanischer Autoren geht hervor, daß außer *S. gallinarum-pullorum* und *S. typhimurium* eine Reihe weiterer *S. spp.* primär eiübertragen werden können (s. Tabelle 1). Dazu wurden Dottersack und Oberfläche der Embryonen untersucht.

Tabelle 1

Salmonellen-Spektrum nach natürlicher Einfeldektion

Autor	Jahr	Zahl d. Unters.	Salm.pos.	Species	Zahl
Ono et al.	1953	?	52	<i>S. senftenberg</i>	33
Sato et al.	1955	?	122	<i>S. pull.</i>	64
				<i>S. senftenb.</i>	37
				<i>S. thompson</i>	7
				<i>S. new bruns</i>	12
				<i>S. bareilly</i>	2
Sato et al.	1956	7469	299	<i>S. pull.</i>	178
				<i>S. senftenb.</i>	60
				<i>S. potsdam</i>	28
				<i>S. new bruns.</i>	18
				<i>S. thompson</i>	8
				<i>S. bareilly</i>	7
Sato et al.	1961	3463	154	<i>S. thompson</i>	/
				<i>S. gall.</i>	/
				<i>S. new bruns.</i>	/
				<i>S. senftenb.</i>	/

/ = nicht angegeben

Die vertikale Übertragungsrate bei einer klinisch gesunden Zuchtherde ist jedoch gering (GAUGER & GREAVES 1946 und LUKAS et al. 1970). So konnten WESSELMANN (1935) und SCHONBERG (1935) nur bei 3 - 16 % der Eier eine primäre Dotterinfektion feststellen, während PHILBROOK et al. (1960) bei 117 Eiern, die von 29 Hennen innerhalb von drei Wochen gelegt waren, nur dreimal *S. typhimurium* im Dotter nachwiesen.

Nach den Untersuchungen von RÜRST (1935) finden sich bei der eiübertragenen Kükenruhr die Bakterien zuerst im

Dotter, dringen dann über die zusrundeehenden Dottersack - zotten in die Kapillaren ein und bedingen auf dem Blutweg eine Infektion der Dottersackwand, der Eihäute und des Embryos.

GIBBONS & MOORE (1946), CHASE (1947) und STOKES et al. (1956) sind der Meinung, daß die Mehrzahl der Hennen, die Salmonellen in den reproduktiven Organen beherbergen, salmonelleninfizierte Eier legen. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von Mundt & Tugwell (1958), Mellor & Panwart (1965) und Forsythe et al. (1967), daß die Einfeldion mit Salmonellen von außen und nicht bereits im Ovar erfolgt. Darüber hinaus stellt FORSYTHE et al. (1967) nur eine geringe Infektionsrate fest; allerdings wurden die Versuchstiere in Käfigen gehalten. Nach HUNGERFORD (1969) geht die Einfeldion bei der Ente in der Regel vom Ovar aus, beim Huhn jedoch nicht, während die Pute eine Mittelstellung einnimmt. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangen BROWN et al. (1965a). Im Gegensatz dazu stehen Untersuchungen von GORDON (1952), dem bei 20.000 Enteneiern keine Isolierung von Salmonellen gelang, obwohl aus mehr als 50 % der Ovarien der betreffenden Legeentenherde der Erreger gezüchtet werden konnte. Es ist jedoch nicht bekannt, ob bei den Isolierungsversuchen Optimalnährböden verwendet wurden.

Die sekundäre Eiübertragung wurde nachgewiesen bei Huhn (WILSON 1948 und GORDON & TUCKER 1965), Ente (SCHAAF 1933, WESSELMANN 1935 und DUMJAHN & SEIDEL 1959), Pute (SOLOWEY et al. 1947), Taube (WÜTIG 1931) und verschiedenen Wildvogelarten (KLOSE et al. 1952, BOEV & STAMATOV 1967 und WUTHE 1973).

Auf der Außenfläche der Eischale befindet sich nach ROMAN - KEWISCH (1934) ein zweischichtiges Häutchen - die Kutikula -, die den ersten Schutz des Eis vor mikrobieller Verschmutzung darstellt (WILLIAMS 1972).

Die 0.2 - 0.4 mm dicke Kalkschale besteht aus drei Schichten - einer äußeren rorösen, einer mittleren spongiösen und einer

inneren säulenförmig angeordneten (ROMANOFF & ROMANOFF 1949). Entgegen STEWARD & Mc NALLY (1943) spielt die Eischale nicht die Hauptrolle bei der Abwehr eindringender Mikroorganismen, wie HAINES & MORAN bereits 1940 und später GARIBALDI & STOKES (1956) nachweisen. Desgleichen hat die Schalendicke keinen Einfluß auf das Eindringungsvermögen (GILLESPIE & SCOTT 1950 und WILLIAMS et al. 1968b). Die Eischale eines ca. 60 g schweren Eis ist von ca. 7 - 15.000 Porenkanälchen durchsetzt, die den Gasaustausch für den sich entwickelnden Embryo zwischen dem Eiinneren und der Außenluft ermöglichen (MEHNER 1968). Ihre Größe (0.009-0.29 mm), Zahl und Verteilung variieren stark (FROMM 1959 und WILLIAMS & DILLARD 1969). Nach SHARP (1937) bilden die Poren die Haupteintrittsstellen für Mikroorganismen, wobei die Porenweite nach HAINES (1939) und KRAFT et al. (1958) von entscheidender Bedeutung ist. Beim Abkühlen des frischgelegten Eis entsteht durch Zusammenziehen der Eimasse an präformierter Stelle die Luftkammer (ROMANOFF & ROMANOFF 1949). Durch den dadurch auftretenden Unterdruck werden Keime durch die Poren gesaugt (LANCASTER & CRABB 1953 und HÜTTNER 1973). WRIGHT & FRANK (1956) stellen fest, daß Eier mit einem hohen spezifischen Gewicht eine geringere Durchwanderungsrate von Salmonellen aufweisen als solche mit einem niedrigen.

Die zwischen Kalkschale und Eiweiß liegende Schalenhaut oder -membran umschließt als pergamentähnliche (GARIBALDI & STOKES 1957), milchig-trübe, fast farblose (SCHWARZ 1969), faserig-netzige (MASSHOFF & STOLPMANN 1961) Membran den Einhalt. Auf der nach außen gerichteten Seite steht sie fest mit der Kalkschale in Verbindung (SIMKISS 1961), während sie innen mit der sogenannten Grenzmembran die äußere dünnflüssige Eiweißschicht berührt (ROMANOFF & ROMANOFF 1949). Die Schalenhaut besteht nach Untersuchungen von SIMKISS (1961), SIMONS & WIERTZ (1963) und ROMANOFF & ROMANOFF (1949) aus zwei Schichten, der äußeren und inneren Schalenmembran. Sie sind aus unterschiedlich starken und

verschieden dicht gelagerten Fasern aufgebaut (SCHMIDT 1957 und MASSHOFF & STOLPMANN 1961). Die Faserzwischenräume sind von einer eiweißähnlichen Substanz ausgefüllt (BROWN et al. 1965b). Beide Schichten haften eng aufeinander und trennen sich nur am stumpfen Einol, wo sie auf diese Weise die Luftkammer bilden (ROMANOFF & ROMANOFF 1949 und SCHWARZ 1969).

Nach Untersuchungen einer Vielzahl von Autoren (MILLER & CRAWFORD 1953, STOKES & OSBORNE 1956, WALDEN et al. 1956, HARTUNG & STADELMAN 1962, LIFSHTIZ & BAKER 1964 und REINKE & BAKER 1965) stellt die Schalenhaut die Hauptbarriere gegen bakterielle Kontamination dar. Nach ROMANOFF & ROMANOFF (1949), WALDEN et al. (1956) und GARIBALDI & STOKES (1958) soll die Schalenhaut auf Grund ihres morphologischen Aufbaus eine rein mechanische Behinderung für eindringende Mikroorganismen bilden. Die Barriere ist jedoch nur ein relativer Schutz, der die penetrierenden Bakterien entsprechend deren spezifischen Fähigkeiten nur eine gewisse Zeit aufhalten kann.

LIFSHTIZ & BAKER (1964) untersuchten einige mechanische Eigenschaften der Membran und stellten fest, daß die äußere Schalenmembran dicker, schwerer und dichter ist als die innere. FLORIAN & TRUSSELL (1957) und LIFSHTIZ et al. (1965) sind jedoch der Ansicht, daß die innere Schalenmembran einen größeren Schutz gegen eindringende Mikroorganismen darstellt, als die äußere. Eine Erklärung für diesen scheinbaren Widerspruch bieten die Arbeiten von MASSHOFF & STOLPMANN (1961) und SIMONS & WIERTZ (1963). Danach ist die höhere bakterielle Resistenz der inneren Membran auf das engere Netzwerk aus feinen Fasern und die daher sehr kleinen Faserzwischenräume zurückzuführen. Der Ansicht von GILLESPIE & SCOTT (1950), daß die Schalenhaut bakterizide Eigenschaften besitzt, widersprechen eine Reihe von Autoren (STOKES & OSBORNE 1956, WALDEN et al. 1956 und GARIBALDI & STOKES 1958).

Wie bereits 1956 von WALDEN et al. vermutet und von BROWN et al. (1965b) bestätigt wird, können bestimmte Bakterien die

Schalenhautdurchlässigkeit aktiv verändern. Als Ursache wird das Einwirken von Enzymen wie Muccinase, Polysaccharidase und Hyaluronidase diskutiert (GARIBALDI & STOKES 1958). Die Schalenhaut kann nach ELLIOT & BRANT (1957) für zahlreiche Bakterienarten auch als Nährstoffreservoir dienen. WEIDLING (1970) stellt bei Hühner-, Enten-, und Taubeneiern keine Veränderung der Schalenhautfasern fest, obwohl in den Faserzwischenräumen Salmonellenanschnitte nachweisbar sind. Zum gleichen Ergebnis kommen SCHWARZ & NEURAND (1972) bei Enteneiern.

Die Grenzmembran ist bei allen Experimenten frei von Salmonellen. So scheint diese im unversehrten Zustand die letzte, wohl aber wirksamste Barriere gegen eindringende Bakterien zu sein (SCHWARZ & NEURAND 1972). Demgegenüber beobachtet WEIDLING (1970) Substanzverluste an der Grenzmembran, jedoch nicht allgemein, wie dies von WALDEN et al. (1956) vermutet wird, sondern nur an einigen Stellen. Die Art und Weise der Veränderungen kann auch elektronenmikroskopisch nicht ermittelt werden.

Die Penetration der Mikroorganismen wird durch verschiedene Umweltfaktoren beeinflusst. Tabelle 2 zeigt z.B. die Abhängigkeit von der Temperatur für verschiedene *S. spp.*

Das Eindringen ist eindeutig temperaturabhängig. Am günstigsten wirkt sich die Bruttemperatur aus, während Zimmer-, Kühlschrank- und Temperaturen über 50°C das Penetrationsvermögen hemmen.

Das Eindringungsvermögen wird nach SIMONS & WIERTZ (1963), GREGORY (1948) und WILLIAMS et al. (1968b) durch steigende Luftfeuchtigkeit verbessert.

Die Frage, ob virulente Salmonellen eine erhöhte Penetration aufweisen, wird von WILSON (1948) positiv beantwortet. BIGLAND & PAPAS (1953) weisen nach experimenteller Infektion mit mehreren *S. spp.* eine Schalenpenetration von *S. kentucky* in 16%, von *S. typhimurium* in 8% und *S. oranienburg* in 3% der Fälle nach. *S. bareilly* konnte jedoch überhaupt nicht im Ei gefunden werden.

Tabelle 2

Penetrationszeit für Salmonellen durch die Eischale in
Abhängigkeit von der Temperatur

Autor	Jahr	S. spp.	Temperatur	Zeit	
Schalm	1937	S. typhimurium	55°C	19-22 Tage	
Buxton & Gordon	1947	S. thompson	Zi'temp.	14 Tage	
Wilson	1948	S. thompson	55°C	3 Tage	
Bigland & Papas	1953	S. typhimurium S. oranienburg S. bareilly S. kentucky	69-73°C	7 Tage außer S. bar.	
Clarenburg & Rominj	1954	S. bareilly	55°C	negativ	
Wright & Frank	1956	S. typhimurium	37°C	1 Tag	
Stokes et al.	1956	S. oranienburg S. monteideo S. typhimurium S. gallinarum S. pullorum	29°C 1°C	5 Tage negativ	
Ellemann	1959	S. typhimurium	4°C 15°C 30°C	negativ 18 Tage 4 Tage	
Brown et al.	1965	S. derby	Zi'temp.	25 Tage	
Mellor	1965	S. derby	21°C	21 Tage	
Rizk et al.	1966	S. lexington S. anatum	2°C 22-25°C	8 Wochen 2 Wochen	x)
Karlshøj & Szabo	1949	S. typhimurium	29°C	3-4 Wochen	
Knothe & Budach	1952	S. typhimurium	37°C	72 Stunden	
Esche & Handloser	1958	S. typhimurium S. dysenteriae S. pullorum	37°C	48 Stunden 72 Stunden 24 Stunden	
Williams et al.	1968	S. typhimurium	55°C	2 Stunden	

x) nach WILLIAMS et al 1968b

Des weiteren soll die Beweglichkeit eine Rolle spielen. So sind bewegliche *Salmonellium* schneller penetrierend als unbewegliche (WILLIAMS et al. 1968b). Von Bedeutung ist auch die Infektionsdosis (WILLIAMS et al. 1968b).

Bei experimenteller Infektion verschmutzter Eier ist die Penetration nach KNOTHE & BUDACH (1952) geringer als bei sauberen. Auf den Einfluß der Lagerung der Eier weisen SOLOWEY et al. (1946) und HARTUNG & STADELMAN (1963) hin. Nach dem Legen nimmt der Gehalt des Eiweißes an antibakteriell wirksamen Substanzen laufend ab.

Nach WILLIAMS & DILLARD (1968a) besteht in den verschiedenen Stadien der Embryonalentwicklung ein Unterschied der Penetrationsfähigkeit von Salmonellen. Mit zunehmender Entwicklung des Embryos erfolgt eine verstärkte Hemmung des Durchwanderungsvermögens; die Verfasser vermuten als Ursache natürliche Schutzeinrichtungen, die durch die embryonale Entwicklung aktiviert werden.

Zur Abwehr der ins Eiinnere eindringenden Mikroorganismen stehen antibakterielle Substanzen wie Lysozym, Avedin, Ovomukoid und Conalbumin (ADLER 1965) zur Verfügung. Sie weisen erhebliche Aktivitäten auf. So können in vitro zwischen 10^2 und 10^3 Keime pro ml Weißer inaktiviert werden (GERLACH et al. 1968). Albumin hat nach BUXTON & GORDON (1947), GREGORY (1948) und LANCASTER & CRABH (1953) nur eine geringe Fähigkeit, das Wachstum von Salmonellen zu hemmen.

Die Vermehrung von Bakterien ist im Weißer gegenüber dem Eidotter (pH 6,1) eindeutig unterlegen. Die Ursache dieser Hemmung ist neben der bakteriostatischen Wirkung in der stark alkalischen Reaktion des Eiklars zu sehen (VAN DER ESCHE & HANDLOSER 1958). LERCHE (1957) gibt einen pH-Wert von 8,0-9,3 an, während BANWART & AYRES (1956) bei frischem Eiweiß einen Wert von 7,5 und altem einen Wert von 9,5 feststellen. Wasserstoffionenkonzentrationen über pH 8

liegen nach VAN DER ESCHÉ & HANDLOSER (1958) außerhalb des für Salmonellen optimalen Wachstumsbereiches. *S. pullorum* und *S. senftenberg* wachsen nach BANWART & AYRES (1956) gut bei einem pH-Wert von 6-8, während DERNBY (1921) den Wachstumsbereich von *S. typhi* mit 6,2 - 7,6, von *S. paratyphi* mit 4,5 - 7,8 und *S. schottmülleri* mit 4,5 - 8,0 angibt. *S. typhimurium* wächst nach KINTNER & MANGEL (1953) dagegen noch ohne Einschränkung bei einem pH von 3,4 - 4,5, während alle anderen Salmonellen deutlich gehemmt werden. Interessant ist die Mitteilung von LERCHE (1957), daß es im Weißer durch die Salmonellen zu einer Säuerung kommt, wobei die Stärke dieser Säuerung bei den verschiedenen *S. spp.* unterschiedlich ist und bei *S. typhimurium* einen pH von 6,8 ergibt.

Die Keimvermehrung geht nach STOKES et al. (1956) so lange sehr langsam vonstatten, bis das Eiklar seine antibakteriellen Eigenschaften verliert. Die Folge ist dann ein rascher Anstieg der Keimzahlen. Die Erreger infizieren den Embryo, der entweder abstirbt, oder die Küken schlüpfen infiziert und verbreiten die Infektion bereits im Schlupfbrüter.

In der Literatur werden nur wenige Versuche mit künstlich infizierten Eiern beschrieben:

BEAUDETTE et al. (1923) führten Versuche zum Erregernachweis in beim Schlupf steckengebliebenen Embryonen durch. Sie infizierten sechs Tage lang bebrütete Eier mit 0,2 ml einer *S. pullorum*-Kultur bzw. mit Keimen, die aus dem Dotter steckengebliebener Küken isoliert worden waren. In beiden Fällen starben alle Eier ab.

DALLING et al. (1927) infizierten je drei Eier von pullorum-positiven Hennen in den Dotter mit 0,1 ml einer *S. pullorum*-Kultur, die zuvor von 1:1.000 - 1:1 000 000 verdünnt worden war. Nach einer Woche konnte aus allen Eiern, mit Ausnahme derjenigen, die die höchste Verdünnungsstufe erhielten, der Erreger in Reinkultur nachgewiesen werden.

ALBRECHT (1968) infizierte sechs Tage lang bebrütete Hühnereier mit *S. pullorum*-Suspension in sechs verschiedenen

Verdünnungsstufen - von 2400 bis 3 Bakterien/0,2 ml - in den Dottersack. Ab einer Dosierung von ca. 12 Erregern/0,2 ml kam es ab dem dritten Tag p.i. zum embryonalen Tod.

Die letzten Eier starben am neunten Tag ab. Die Rückisolation des Erregers aus dem Dotter und bei einem Embryo auch aus Leber und Herz gelang in allen Fällen.

VIAENE et al. (1965) sahen bei einer Infektionsrate von 5 - 10 Erregern (*S. pullorum*) in den Dottersack einen Embryontod, beginnend mit dem zweiten Tag p.i. und einem Höhepunkt nach drei bis fünf Tagen.

GERLACH et al. (1968) inokulierten 7 - 20 lebensfähige *S. arizona* 7:1,78 auf die äußere Schalenmembran via Luftblase von frischen Puteneiern vor der Bebrütung. Nur fünf Embryonen starben ab.

Angaben über die Lokalisation von Salmonellen in Hühnerembryonen sind in der zugänglichen Literatur nur spärlich vorhanden.

Tabelle 3 zeigt die Verteilung von *S. pullorum* im Embryo nach natürlicher Infektion (FÜRST 1935).

Tabelle 3

Lokalisation von *S. pullorum* nach natürlicher Einfeldion

Embryo	Bauchf.	Ösop.	Le.	Nie.	Mi.	Darm	Lu.	He.	Skel'm.	Mu.	Geh.
1	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
4	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
6	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
7	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-

Ösop. = Ösophagus
 Le. = Leber
 Nie. = Niere
 Mi. = Milz
 Lu. = Lunge

He. = Herz
 Skel'm. = Skelettmuskel
 Mu. = Muskelmagen
 Geh. = Gehirn
 Bauchf. = Bauchfell

Eine Vielzahl von Untersuchern hat den pH-Wert des Digestionstraktes des erwachsenen Huhnes bestimmt (s. Tabelle 4).

Für die stark voneinander abweichenden Ergebnisse gibt FARNER (1942) die unterschiedlichen Meßmethoden, die Tageszeit und die verschiedene Zeitspanne zwischen Todeseintritt und Untersuchung als Begründung an. MUSSEHL et al. (1932), HELIER & PENQUITE (1936), WISEMANN et al. (1956) und WINGET et al. (1962) bejahen eine Auswirkung der Fütterung, während VONK et al. (1946) dem Alter der Hühner Einfluß beimessen. Keine Auswirkung auf den pH-Wert zeigen Geschlechtszugehörigkeit, das Stadium der Mauser und der Reproduktion (BUCKNER et al. 1944). Grundsätzlich läßt sich jedoch sagen, daß die gefundenen Werte - mit wenigen Ausnahmen - im saueren Bereich liegen. Ubereinstimmend zeigen alle Untersuchungen, daß der Muskelmagen mit einem pH-Wert von 2.6 - 3.9 das sauerste Milieu darstellt. BLOUNT (1937) stellt die These auf, daß eine saure Reaktion im Darmkanal des Huhnes ein Zeichen von Gesundheit, während eine Verschiebung dieser Reaktion in alkalischer Richtung über pH 7 das Zeichen eines pathologischen Vorgangs sei. EBERHARD (1946) konnte in seiner Untersuchung über die Wasserstoffionenkonzentration des Verdauungstraktes bei gesunden und kranken Hühnern einen Teil der These BLOUNTS, daß eine alkalische Darmreaktion ein Krankheitszeichen sei, nicht widerlegen, jedoch ließ sich die weitere Folgerung, daß eine saure Darmreaktion ein Zeichen von Gesundheit sei, nicht bestätigen.

Cox et al. (1971) prüften das Schicksal von *S. typhimurium*, *S. senftenberg* und *S. thompson* in vitro und stellten fest, daß die saure Natur des Digestionstraktes bei Hühnern mit dazu beiträgt, die Salmonellen, die nach VAN DER ESCHÉ & HANDLOSER (1956) einen Wachstumsbereich von pH 4.0 - 8.7 haben, zu zerstören. Der Grad der Zerstörung ist direkt proportional zum Säuregehalt. So ist der Muskelmagen mit pH ca. 2.6 der kritischste Wert für die den Darmkanal passierenden Salmonellen. Die Verfasser weisen jedoch darauf hin, daß möglicherweise in vivo andere Faktoren zum Schutz oder zur Zerstörung der Keime beitragen können.

Tabelle 4

pH-Wert-Messung im Digestionstrakt des erwachsenen Hühnes

Autor	Jahr	Kropf	Drittmagen	Muskelm.	Duodenum	Jejunum	Ileum	Colon	Caecum
Mc Laughlin	1931	-	5.59	3.39	6.29	6.22	6.22	-	1.92
Mussehl et al.	1932	-	4.8	2.9	6.1	6.2	6.9	6.6	6.3
Mayhew	1935	4.72	4.5	-	6.11	6.05	6.54	-	6.70
Heller & Pennuife	1936	4.4	3.61	2.99	5.94	5.94	7.21	6.62	6.98
Blount	1937	-	-	-	5.8	-	-	-	7.3
Farner	1942	4.51	4.40	2.60	5.86	5.54	6.34	6.56	5.71
Buckner et al.	1944	4.6	4.4	3.3	6.3	-	-	6.4	5.5
Vonk et al.	1946	-	-	2.84	-	-	-	-	-
Eberhard	1948	4.55	5.00	3.10	6.45	5.45	6.61	6.42	5.61
Wisemann et al.	1956	4.86	4.65	3.90	6.23	6.01-7.39		6.70	6.66
Winget et al.	1962	-	3.17	-	-	6.67	6.67	7.09	-

Die Sekretion von Salzsäure durch Proventrikulusdrüsen im Hühnerembryo wird dadurch ausgelöst, daß zwischen dem elften und dreizehnten Tag der Inkubation der Embryo mit dem Abschlucken von zuerst Amnionflüssigkeit und dann Eiklar beginnt (TONER 1965). Ein geringer Einfluß auf die Sekretion wird auch dem Kropf zugeschrieben (COLLIP 1922). ROMANOFF (1962) gibt an, daß sich vom Beginn des Abschluckens der pH-Wert des Drüsenmagens vom neutralen zum sauren Milieu bewegt, und daß er am 20. Bebrütungstag einen Wert von 4,2 erreicht hat. Nach TONER (1965) liegt der pH-Wert des Drüsenmagens bei 7,9,11 und 12tägigen Embryonen zwischen 6 und 7, während er bei vier 14tägigen Embryonen einen pH von 6, 6, 4 und 3 feststellt.

Folgende Untersuchungen

Versuchsplan

Es wurden antikörperfreie Hühnereier vor Beginn der Brut mit *S. typhimurium* via Luftkammer infiziert. Die sofort anschließend wie üblich bebrüteten Eier wurden täglich durchleuchtet, abgestorbene Embryonen entfernt und auf das Vorhandensein von Salmonellen - einschließlich I-Form - untersucht.

Am 19. Bebrütungstag wurden die überlebenden Embryonen dem Brutschrank entnommen und folgende Organe untersucht: Kopf, Herz, Leber, Milz, Lunge, Niere, Drüsenmagern, Duodenum, Jejunum und Caecum.

Zusätzlich wurden bereits Embryonen am 11. und 14. Bebrütungstag (d.h. vor Beginn und nach Inkangkommen der oralen Weißelaufnahme) gleichsinnig untersucht.

In einer letzten Versuchsreihe wurden zur Überprüfung des pH-Wertes bei infizierten und nicht infizierten Embryonen am 11., 14. und 19. Bebrütungstag pH-Wertmessungen des Weißes und der verschiedenen Teile des Verdauungstraktes durchgeführt.

Varietal und Methodik

I. Bruteier

Als Bruteillieferanten standen spezifisch pathogenfreie Hennen einer Leghorn-Hybrid-Linie zur Verfügung. Die Eier wurden innerhalb einer Woche nach Eiablage verwendet. Eine Waschung der Eischale erfolgte nicht, sie wurde aber wie üblich durch Formalinbegasung desinfiziert.

II. Bakterienstamm

Der zur Infektion verwendete Feldstamm *S. typhimurium* 317/70 wurde aus Hühnerküken isoliert, die vermutlich über das Ei infiziert worden waren. Die Diagnose *S. typhimurium* wurde vom Bundesgesundheitsamt in Berlin bestätigt.¹⁾

Biochemisch zeigte der Stamm 317/70 keine Abweichung von der Norm. Seine Pathogenität wurde im Infektionsversuch an Eintagsküken getestet. Eine intraperitoneale Infektion mit 0,2 ml einer Übernachtskultur resultierte in 90% Mortalität innerhalb von drei Tagen, nach oraler Infektion mit der selben Dosis starben innerhalb einer Woche 50% der infizierten Küken.

Der Ausgangsstamm wurde auf Difco-Nutrient-Agar-Schrägröhrchen im Kühlschrank aufbewahrt und alle drei Monate passagiert.

III. Nährböden

Folgende Fertignährböden der Firma Difco wurden laut Gebrauchsanweisung verwendet:

- a) Blut-Agar Base mit Zusatz von 10% defibriniertem Rinderblut
- b) Endo-Agar
- c) Heart-Infusion-Broth
- d) Brilliant-Green-Agar

¹⁾ Herrn Dr. PIETZSCH danke ich für die freundlicherweise durchgeführte Typendifferenzierung.

Zum Nachweis von L-Formen wurden Nährböden folgender Zusammensetzung verwendet:

e) Direktausstrich

Difco F10-Agar laut Gebrauchsanweisung mit Zusatz von 55 ml Hefeautolysat pro 1 Gesamtnährboden. Nach Autoklavierung Zusatz von 10% steril-filtriertem, inaktiviertem Pferdeserum. Das Hefeautolysat wurde auf Grund der Angaben von J(DER jr. (1966) aus 120g frischer Bäckerhefe auf 200 ml Aqua bidest hergestellt. Die Hefesuspension in Wasser wurde 48 Stunden bei 56°C im Wasserbad inkubiert und anschließend abzentrifugiert. Der Überstand wurde nach Klarfiltration (SEITZ K-7-Filter) im Tiefkühlschrank aufbewahrt.

f) Anreicherung

Zur Anreicherung der L-Formen wurde ein binhasisches Medium verwendet, wobei der oben angeführte Agar als Kurz-Schrägfläche in Röhrchen gegossen wurde, die nach mindestens 24 Stunden Erstarrungszeit mit dem Flüssigmedium der gleichen Zusammensetzung, jedoch ohne Agar, überschichtet wurden.

Blut-, Endo- und Brilliant-Grün-Platte wurden nach Übernachtbebrütung bei 37°C abgelesen.

Bouillon aus dem Heart-Infusion-Broth-Röhrchen wurde nach 24 Stunden im Brutschrank auf Brilliant-Grün-Agar-Platten ausgestrichen.

Reimpfte L-Platten wurden ca. 8 Tage in einer feuchten Kammer inkubiert. Die Röhrchen mit dem beimpften Medium wurden 8 Tage angereichert und dann auf I-Platten ausgestrichen.

Die Beurteilung der bewachsenen Platten erfolgte nach der Koloniemorphologie, dem Farbumschlag der Selektivplatten und dem Schnell-Agglutinationstest mit polyvalentem Salmonella I-Antiserum, Behring-Werke. In Zweifelsfällen wurde eine Bunte Reihe angelegt.

Die L-Platten wurden unter dem Mikroskop auf Vorhandensein von L-Formen untersucht, die häufig vorhandenen normalen

Bakterienkolonien wurden nicht beachtet.

Wie bei einem Tier positive I-Kultur konnte durch Passage auf Blut-Agar in die parentale Salmonellenform überführt werden.

In die Auswertung wurden nur Reinkulturen von Salmonellen aus den Embryonen einbezogen, gelegentlich auftretende Verunreinigungen mit anderen Keimen führten zu einer Entfernung des Eis aus der Versuchsreihe.

IV. pH-Meter

Es wurde eine Einweg-Meßkette mit einer Mikrosonde der Firma Ingold verwendet.

V. Vorbehandlung des Ausgangsstammes und Erregernachweis

Vor der Verwendung zur Infektion wurde der Stamm auf Heart-Infusion-Broth-Röhrchen abgeimpft und über Nacht bebrütet. Zur Abbremsung des Wachstums wurde die Kultur in den Kühlschrank gestellt. Nach einer Kontrolle auf Reinkultur wurde zur Feststellung der Keimzahl auf Heart-Infusion-Röhrchen eine Zehnerpotenzreihe titriert. Auf Grund des Titrationsergebnisses erfolgte eine Verdünnung der im Kühlschrank aufbewahrten Kultur mit steriler physiologischer Kochsalzlösung, sodaß in 0,2ml der Verdünnung ca. 10 Keime suspendiert waren. Die Verdünnung wurde zur Kontrolle der Keimzahlen auf Endo-Agar nach dem Kochschen Plattenverfahren titriert. Die Kolonien der einzelnen Platten wurden ausgezählt und der Mittelwert aus den Zählresultaten der einzelnen Titrationstufen berechnet. Daraus ergab sich die mittlere Infektionsdosis pro Ei.

Die Bruteier wurden durchleuchtet und die Eischale wurde über der Luftkammer an zwei Stellen durchbohrt. Das zweite Loch diente zum Druckausgleich bei der Injektion. Nach Joddesinfektion der vorgesehenen Injektionsstelle erfolgte die Injektion mit 0,2ml der beschriebenen Keimsuspension in die Luftkammer. Die Bebrütung der Eier nach Verschluss der Injektionsstelle erfolgte wie üblich bei 37,8°C. Täglich, beginnend mit dem 5.Tag p.i. wurden die Eier mit einer UV-Schlierlampe durchleuchtet und die abgestorbenen Eier

aussortiert. Diese Eier wurden unter sterilen Kautelen geöffnet und die Allantoisflüssigkeit auf Blut- und Endo-Agar sowie auf L-Platte ausgestrichen.

Alle überlebenden Embryonen wurden am 19. Tag p.i. - wegen der Gefahr einer Brutschrankinfektion - aus dem Brutschrank entnommen und sofort untersucht. Dazu wurde der steril aus der Schale entnommene Embryo in einer Petrischale seziiert. Mit einer Bakterienöse wurde Material von Herz, Leber, Drüsenmagen und Niere auf Blut-, Endo- und L-Platten ausgestrichen. Zusätzlich wurde Material der gleichen Organe und von Kropf, Milz, Lunge, Duodenum, Jejunum und Caecum in Heart-Infusion-Broth angereichert.

Die am 11. und 14. Bebrütungstag entnommenen Embryonen wurden mit den gleichen Methoden untersucht. Wegen der geringen Größe der Organe konnten jedoch nur Kropf, Drüsenmagen, Darmkonvolut und Restembryo bakteriologisch untersucht werden.

VI. pH-Wert-Messung in vitro und in vivo

Zur Absicherung, ob eine Änderung der Säuretoleranz zwischen dem Ausgangsstamm 317/70 und Rückisolaten aus dem Drüsenmagen von Embryonen - bezeichnet als A,B,C,D - nach 19tägiger Bebrütung eingetreten ist, wurden die genannten Stämme in Heart-Infusion-Broth (auf verschiedene Abstufungen zwischen pH 2,5 und 8,5 eingestellt) mit ca. 10 Keimen beimpft und der Trübungsgrad nach 24, 48 und 72 Stunden abgelesen. Mit Hilfe des pH-Meters wurde die Wasserstoffionenkonzentration verschiedener Abschnitte des Intestinaltraktes und des sich noch in der Eischale befindlichen Eiweißes bei 11,14 und 19 Tage alten Embryonen ermittelt. Jeweils 10 infizierte Embryonen und 10 nicht infizierte Kontrollen wurden der Messung unterworfen. Hierzu wurden die genannten Verdauungskanalabschnitte mit einem Vorstichdorn durchbohrt und die Meßelektrode in den betreffenden Hohlraum eingeführt. Die Ermittlung des arithmetischen Mittels der Meßwerte, ihrer Standardabweichung und der Signifikanz zwischen den Gruppen (t-Test) erfolgte mit dem Programm für den Tischcomputer "Diehl-Combitronic", Archiv-Nr. 10371.

Ergebnisse

I. Versuchsreihe 1 - 10

436 antikörperfreie Hühnereier wurden in 10 Versuchsreihen wie beschrieben vor Beginn der Brut mit durchschnittlich 3, 4, 6, 7, 12, 14 und 16 Keimen pro Ei beimpft.

161 der so behandelten Eier zeigten keine embryonale Entwicklung. Bei 49 dieser Eier wurden Salmonellen isoliert.

172 der inokulierten Eier starben bis zum 19. Bruttag ab. Aus 66 Embryonen ließ sich *S. typhimurium* nachweisen.

Am 19. Bebrütungstag lebten noch 103 von 275 zur Entwicklung gekommenen Embryonen, von denen 100 nach Tötung zur Auswertung gelangten. 2 Embryonen waren bakteriell verunreinigt. Da bei dem dritten Salmonellen nur in der Lunge nachzuweisen waren, wurde von einer Beurteilung abgesehen.

Insgesamt kamen 333 Eier nicht zur Entwicklung bzw. starben überwiegend frühembryonal ab. Aus ihnen konnten 115 mal Salmonellen isoliert werden, 218 mal blieb der Kulturversuch negativ. Diese hohe Absterberate ist wahrscheinlich auf eine fehlerhafte Injektionstechnik zurückzuführen, denn nur bei exakter Injektion in die Luftkammer ist ein Überleben des Embryos möglich.

Die Ergebnisse der ersten 10 Versuchsreihen sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

Tabelle 5

Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuchsreihen 1 - 10

Ver- suchs- nr.	Dosis -/Ei	Zahl der Eier		bis 19. Tag abgestorben	am 19. Bruttag noch lebend										
		beimpft	entw. Keine		entw. Salm. +	+	Zahl Bakt.	Leber Verd.	Niere Milz Lunge	Ver. Sal					
1	7,4	30	22	8	3	14	6	8	2	2	5	-	1	-	1
2	12	45	31	14	5	16	6	15	4	-	6	-	1	-	4
3	4	45	33	12	5	26	9	7	2	-	3	-	-	-	2
4	14	30	27	3	2	13	5	14	4	3	6	1	1	-	4
5	16	50	28	22	12	15	9	13	6	-	3	-	-	2	3
6	3,2	50	27	23	1	14	1	13	-	-	4	1	-	1	9
7	3	50	8	42	8	6	2	2	-	-	1	-	-	-	1
8	6	45	42	3	0	30	10	12	1	2	6	1	-	-	4
9	12	50	42	8	5	30	15	12	5	-	5	-	-	1	2
10	3,3	42	15	27	8	8	3	7	2	1	3	-	-	1	2
Σ		436	275	161	49	172	66	103	26	8	42	3	3	5	32

ent. = entwickelt

Verd. = Verdauungstrakt

Ver. = Verunreinigung

+ = positiv

- = negativ

Bakt. = Bakterienämie

Der weitaus häufigste Fundort ist der Verdauungstrakt mit 42% der Fälle. Die Aufschlüsselung der Isolationen aus den verschiedenen Abschnitten des Digestionstraktes zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6

Salmonellen-Isolate aus den verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes

Versuch Nr.	Kropf	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
1	3	1	3	1	3
2	4	1	3	-	3
3	2	1	2	1	1
4	1	2	3	-	2
5	-	-	3	-	2
6	3	-	2	-	-
7	-	-	1	1	1
8	5	1	4	2	4
9	2	2	3	1	3
10	-	1	2	1	3
	20	9	26	7	22

Es fällt auf, daß im vorderen, als stärker sauer gelten - den Teil des Verdauungstraktes die meisten Salmonellenfunde auftreten und zwar:

Kropf	20 x = 23,8%
Drüsenmagen	9 x = 10,7%
Duodenum	26 x = 31,0%

Die Besiedelung von Leber und Niere kann wegen der besonderen anatomischen Verhältnisse und wegen des Fehlens von Lymphknoten bei Hühnerküken nicht notwendig als Folge einer Generalisation gewertet werden. Die insgesamt acht Fälle von Leber- und drei von Nierenisolationen bestätigen die Notwendigkeit einer vorsichtigen Beurteilung.

Bei insgesamt 26 Embryonen lag eine Bakteriämie vor. Der Erreger war im Herz und in verschiedenen Organen nachweisbar.

Die je drei Salmonellenfunde in Milz und Lunge geben einen Hinweis darauf, daß eine Organabsiedelung im Verlauf einer Generalisation stattgefunden hat.

Bei 32 Embryonen war ein Salmonellennachweis nicht mehr möglich.

Die aufgeführten Salmonellenfunde konnten nur bei bakteriämischen Zuständen im Direktausstrich erzielt werden. In allen anderen Fällen war die Keimzahl so gering, daß nur die Anreicherung ein positives Ergebnis ergab.

In den Tabellen 7 - 16 werden die Versuchsreihen 1 - 10 im einzelnen aufgeführt:

Tabelle 7 Ergebnisse der Versuchsreihe 1

Lokalisation von S. typhimurium in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Ei Nr.	Kropf	Herz	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
23	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
24	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
28	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+
29	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Gesamtzahl der Eier: 30

Infektionsdosis: 7,4 Keime pro Ei

überlebende Embryonen am 19. Bruttag: 8

1x Salm. negativ

2x Bakteriämie

5x Organabsiedelung

davon: 4x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie in Leber oder Niere

1x Generalisation mit Absiedelung in Milz bzw. Lunge

Abgestorbene Eier vor dem 19. Bruttag: 14

6x Salm. positiv

6x Salm. negativ

Nicht entwickelte Eier: 8

3x Salm. positiv

5x Salm. negativ

Tabelle 8 Ergebnisse der Versuchsreihe 2

Lokalisation von S. tubimurium in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Ei Nr.	Kropf	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
31	+	-	-	-	-	-	-	-	+
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	+	+	-	+
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	+	-	-	-	-	-	+	+	+
38	+	+	+	+	+	+	+	+	+
39	+	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	+	-	-
41	+	+	-	-	-	+	-	-	-
42	verminneinigt								
43	+	-	+	+	-	-	-	-	-
44	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Gesamtzahl der Eier: 45 Infektionsdosis: 12 Keime pro Ei

Überlebende Embryonen am 19. Bruttag: 15 (davon 1 verminneinigt)

4x Salm. negativ

4x Bakterienämie

6x Organabsiedelung

davon: 5x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie in Leber oder Niere

1x Generalisation mit Absiedelung in Milz bzw. Lunge

Abgestorbene Eier vor dem 19. Bruttag: 16

6x Salm. positiv

10x Salm. negativ

Nicht entwickelte Eier: 14

5x Salm. positiv

9x Salm. negativ

Tabelle 9 Errebnisse der Versuchsreihe 3

Lokallisation von S. typhimurium in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Ei Nr.	Kropf	Herz	Leber	Milz	Junge	Niere	Drüsenmarken	Duodenum	Jejunum	Caecum
39	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
40	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
45	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Gesamtzahl der Eier: 45 Infektionsdosis: 4 Keime pro Ei

Überlebende Embryonen am 19. Brutttag: 7

2x Salm. negativ

2x Bakteriämie

3x Organbesiedelung

davon: 3x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie Leber oder Niere

Abgestorbene Eier vor dem 19. Brutttag: 26

9x Salm. positiv

17x Salm. negativ

Nicht entwickelte Eier: 12

5x Salm. positiv

7x Salm. negativ

Tabelle 10 Ergebnisse der Versuchsreihe 4

Lokalisation von *S. typhimurium* in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Ei Nr.	Kropf	Herz	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
17	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
18	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
19	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
20	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
21	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
28	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Gesamtzahl der Eier: 30 Infektionsdosis: 14 Keime pro Ei

Überlebende Embryonen am 19. Bruttag: 14

4x Salm. negativ

4x Bakterienämie

6x Organabsiedelung

davon: 5x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie Leber oder Niere

1x Generalisation mit Absiedelung in Milz bzw Lunge

Abgestorbene Eier vor dem 19. Bruttag: 13

5x Salm. positiv

8x Salm. negativ

Nicht entwickelte Eier: 3

2x Salm. positiv

1x Salm. negativ

Tabelle 11 Ergebnisse der Versuchsreihe 5

Lokalisation von S. typhimurium in 19 Tage alten Hühnerembryonen									
Ei Nr.	Kropf	Herz	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum Caecum
38	-	-	-	-	-	-	-	+	+
39	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+	+	+	+
41	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	+	+	+	+	+	+	+	+	+
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	+	+	+	+	+	+	+	+	+
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	-	+	-	-	-	-	-	+	+
49	-	-	-	-	-	-	-	+	+
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Gesamtzahl der Eier: 50		Infektionsdosis: 16 Keime pro Ei	
Überlebende Embryonen am 19. Bruttag: 13			
3x	Salm. negativ		
6x	Bakteriämie		
4x	Organabsiedelung		
davon: 2x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie Leber oder Niere			
2x Generalisation mit Absiedelung in Milz bzw Lunge			
Abgestorbene Eier vor dem 19. Bruttag: 15			
9x	Salm. positiv		
6x	Salm. negativ		
Nicht entwickelte Eier: 22			
12x	Salm. positiv		
10x	Salm. negativ		

Lokalisation von S. typhimurium in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Ei Nr.	Kropf	Herz	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-

Gesamtzahl der Eier: 50 Infektionsdosis: 3,2 Keime pro Ei

überlebende Embryonen am 19. Bruttag: 13

9x Salm. negativ

4x Organabsiedelung

davon: 3x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie Leber oder Niere

1x Generalisation mit Absiedelung in Milz bzw. Lunge

abgestorbene Eier vor dem 19. Bruttag: 14

1x Salm. negativ

1x Salm. positiv

Nicht entwickelte Eier: 23

22x Salm. negativ

1x Salm. positiv

Tabelle 13

Ergebnisse der Versuchsreihe 7

Lokalisation von *S. typhimurium* in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Ei Nr.	Kropf	Herz	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
49	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Gesamtzahl der Eien: 50 Infektionsdosis: 3 Keime pro Ei

Überlebende Embryonen am 19. Bruttag: 2

1x Salm. negativ

1x Organbesiedelung, ausschließlich im Verdauungstrakt

Abgestorbene Eier vor dem 19. Bruttag: 6

4x Salm. negativ

2x Salm. positiv

Nicht entwickelte Eien: 42

34x Salm. negativ

8x Salm. positiv

Tabelle 14 Ergebnisse der Versuchsreihe 8

- 35 -

Lokalisation von *S. typhimurium* in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Ei Nr.	Kropf	Herz	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
39	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+
40	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
41	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
44	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+
45	verunreinigt									

Gesamtzahl der Eier: 45 Infektionsdosis: 6 Keime pro Ei

überlebende Embryonen am 19. Bruttag: 12

4x Salm. negativ

1x Bakteriämie

6x Organabsiedelung

davon: 6x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie Leber oder Niere

Abgestorbene Eier vor dem 19. Bruttag: 30

20x Salm. negativ

10x Salm. positiv

Nicht entwickelte Eier: 3

alle Salm. negativ

Tabelle 15

Ergebnisse der Versuchsreihe a

Lokalisation von S. typhimurium in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Bl Nr.	Kropf	Herz	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
39	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
40	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
41	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
42	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
46	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+
49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-

Gesamtzahl der Eier: 50 Infektionsdosis: 12 Keime pro Ei

Überlebende Embryonen am 19. Bruttag: 12

2x Salm. negativ

5x Bakteriämie

5x Granuloabsiedelung

davon: 4x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie in Leber oder Niere

1x Generalisation mit Absiedelung in Milz bzw. Lunge

Abgestorbene Eier von dem 19. Bruttag: 30

15x Salm. negativ

15x Salm. positiv

Nicht entwickelte Eier: 0

3x Salm. negativ

5x Salm. positiv

Tabelle 16

Ergebnisse der Versuchsreihe 10

Lokalisation von *S. typhimurium* in 19 Tage alten Hühnerembryonen

Ft. Nr.	Kroef	Herz	Leber	Milz	Lunge	Niere	Drüsenmagen	Duodenum	Jejunum	Caecum
36	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
40	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+

Gesamtzahl der Eier: 42 Infektionsdosis: 3,3 Keime pro Ei

berlebende Embryonen am 19. Bruttag: 7

2x Salm. negativ

2x Bakteriämie

3x Absiedelung

davon: 2x ausschließlich im Verdauungstrakt, sowie in Leber oder Niere

1x Generalisation mit Absiedelung in Milz bzw. Lunge

Abgestorbene Eier vor dem 19. Bruttag: 8

5x Salm. negativ

3x Salm. positiv

Nicht entwickelte Eier: 27

19x Salm. negativ

8x Salm. positiv

Laut Tabelle 17 besteht ein Einfluß der Infektionsdosis auf die Zahl bakteriämischer Embryonen am 19. Inkubationstag. Im Chi-Quadrat-Test (Diehl Combitronic Archiv-Nr. 10354) ist eine signifikante Differenz zwischen den Versuchsreihen mit Infektionsdosen unter 10 und über 10 Keimen pro Ei nachweisbar. ($\chi^2 = 6,2591$)

Tabelle 17

Beziehung zwischen Infektionsdosis und Bakteriämiefällen

Infektionsdosis pro Ei	Sentikämie	Anzahl der Eier
3 - 4	2	7
	0	13
	0	2
	2	7
6 - 7	2	8
	1	11
12	4	14
	5	12
14	4	14
16	6	12

Je höher die Infektionsdosis ist, desto häufiger tritt beim Embryo eine Bakteriämie auf.

Eine ähnliche Tendenz, die laut Tabelle 18 zwischen Infektionsdosis und dem negativen Salmonellennachweis vorhanden zu sein schien, ließ sich dagegen mit dem gleichen Test statistisch nicht absichern ($\chi^2 = 2,4393$). Das bedeutet, daß die Infektionsdosis und die Häufigkeit des negativen Salmonellennachweises nicht direkt korreliert.

Tabelle 18

Beziehung zwischen Infektionsdosis und negativem Salmonellennachweis

Infektionsdosis pro Ei	neg. Salmonellen- nachweis	Anzahl der Eier
3 - 4	3	7
	4	12
	1	2
	2	7
6 - 7	1	8
	4	11
12	4	14
	2	12
14	4	14
16	3	12

Die Untersuchung auf L-Formen verlief nur in einem einzigen Fall positiv und zwar bei einem nach 13 Tagen abgestorbenen Embryo.

II. Versuchsreihe 11

Das Ergebnis der bakteriellen Untersuchung von Kropf, Drüsen -
magen, Darmkonvolut und Nestembryo von 11 - und 14tägigen
Embryonen zeigt Tabelle 19.

Bei fünf 11 Tage alten Embryonen wurden keine Salmonellen
nachgewiesen, während dies jedoch bei zwei von fünf 14 Tage
alten Embryonen jeweils in Kropf und Drüsenmagen der Fall
war.

Abbildung 10

Ergebnis von Versuchsreihe 11

11. Tag

Ei Nr.	Kropf	Drüsenmarken	Darmkonvolut	Restembryo
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

14. Tag

Ei Nr.	Kropf	Drüsenmarken	Darmkonvolut	Restembryo
6	-	-	-	-
7	+	+	-	-
8	+	+	-	-
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-

III. Säuretoleranz in vitro

Auf Tabelle 20 ist die pH-Werttoleranz des Ausgangsstammes und von vier Rückisolaten aus dem Drüsenmarken (A, B, C, D) von 19 Tage alten Embryonen dargestellt. Die Auswertung der Tabelle ergibt, daß zwischen dem Ausgangsstamm 317/70 und der reisolierten Stämme keine gravierenden Unterschiede in der Säuretoleranz auftreten. Uneingeschränktes Wachstum wird beim Ausgangsstamm zwischen pH 4,9 und 8,5 und den Rückisolaten zwischen 4,7 und 8,5 gesehen. Ein gehemmtes Wachstum erfolgt bis zu pH 4,0, bei Stamm A noch bis 3,5.

IV. Ergebnisse der pH-Wertmessungen

Die Ergebnisse der pH-Messungen in den verschiedenen Teilen des Verdauungstraktes und des Eiweißes werden in den Tabellen 20 - 23 zusammengefaßt.

Wachstum von Ausgangsstamm 317/70 und 4 Rückisolaten A, B, C, D aus dem Drüsenmamm von 19 Tage alten Hühnerembryonen bei verschiedenen pH-Werten

pH-Wert	317/70			A			B			C			D		
	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
2.5	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.5	-	-	-	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.0	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
4.1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
4.2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
4.3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
4.4	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
4.5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
4.6	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
4.7	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
4.8	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
4.9	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
5.0	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
5.5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
6.0	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
6.5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
7.0	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
7.5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
8.0	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/
8.5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	/	/	/	/	/	/	/	/

/ = nicht untersucht (+) = gehemmtes Wachstum

pH-Wert-Messung in verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes und von Eiweiß bei 11 Tage alten Hühnerembryonen (I = infiziert, K = Kontrolle)

Ei Nr.	Drüsenpangen		Muskelmagen		Eiweiß	
	I.	K.	I.	K.	I.	K.
1	7.19	5.25	5.28	5.32	7.11	7.95
2	6.15	6.43	5.32	5.97	7.20	5.10
3	6.75	6.55	5.09	6.14	6.92	7.91
4	6.34	6.25	5.78	6.33	6.90	8.43
5	6.38	7.75	5.43	6.27	7.42	7.55
6	6.00	7.10	6.23	5.99	7.52	7.63
7	7.21	7.14	5.91	5.83	6.95	7.42
8	6.53	6.72	5.82	6.02	7.12	7.62
9	6.39	6.58	6.07	5.39	7.03	8.00
10	7.02	7.12	6.22	5.81	7.08	8.03
$\bar{x}$	6.5850	6.770	5.7150	5.9070	7.2550	7.8940
s	± 0.4159	± 0.5370	± 0.4104	± 0.3358	± 0.3457	± 0.2854
t	0.683		1.1449		4.2122 > 0.1% xxx	

xxx > 0.1 % = hochsignifikant

Tabelle 2a

pH-Wert-Messung in verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes und vom Eiweiß bei 14 Tage alten Hühnerembryonen (I = infiziert, K = Kontrolle)

Ei Nr.	Kropf		Drüsenmagen		Muskelmagen		Duodenum		Eiweiß	
	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.
1	4.50	6.30	4.00	5.13	4.20	5.15	/	/	7.93	8.63
2	5.25	6.25	4.62	5.08	5.10	5.05	/	/	6.91	8.00
3	5.10	6.42	5.21	5.73	4.63	5.67	/	5.06	7.75	7.69
4	4.52	6.21	5.35	5.23	4.85	5.32	/	/	7.45	8.24
5	4.55	5.70	5.65	5.11	5.42	5.25	4.93	6.14	7.39	7.45
6	/	6.95	5.13	4.73	4.58	4.83	4.76	5.93	7.52	7.66
7	4.86	6.53	4.81	5.12	5.33	5.16	5.35	5.86	7.13	7.79
8	/	5.30	4.85	5.16	5.02	5.25	/	4.98	7.24	7.50
9	5.06	6.39	5.14	5.33	5.38	5.00	4.57	5.20	7.62	7.12
10	4.48	5.76	4.76	5.71	5.21	4.98	/	/	7.58	7.23
$\bar{x}$	4.7970	6.1870	4.9520	5.2330	4.9720	5.1660	4.7200	5.4833	7.4520	7.7300
s	+0.3152	+0.4773	+0.4549	+0.2988	+0.4016	+0.2310	+0.4147	+0.5116	+0.3004	+0.4603
t	7.1421	0.1% xxx	1.6327		1.3242		2.6773	5% x	1.5995	

x) 5% = signifikant im t-Test

xxx) 0.1% = hochsignifikant im t-Test

Tabelle 23

pH-Wert-Messung in verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes und von Eiweiß bei 19 Tage alten Hühnerembryonen (I = infiziert, K = Kontrolle)

EI Nr.	Kropf		Drüsenmagen		Muskelmagen		Duodenum		Jejunum		Caecum		Eiweiß	
	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.	I.	K.
1	4.73	5.41	4.38	3.98	4.71	4.63	4.13	5.49	5.02	5.85	4.53	5.62	6.31	6.35
2	4.44	4.92	4.63	4.48	4.83	3.73	5.11	4.53	5.35	5.41	5.68	5.67	6.55	7.10
3	4.54	4.82	4.35	4.23	4.63	4.27	5.05	5.03	5.35	5.76	5.36	6.01	7.24	7.35
4	4.72	4.30	4.20	4.34	4.08	4.49	5.12	4.79	5.36	5.00	5.28	5.76	7.09	7.26
5	4.30	4.91	4.35	4.33	3.67	4.52	5.22	5.77	5.32	4.09	5.09	5.55	7.26	7.58
6	5.01	4.50	4.37	4.20	3.84	3.98	4.73	5.23	6.53	6.02	5.11	5.82	7.79	7.34
7	4.37	4.51	4.65	4.28	4.12	3.72	4.98	4.89	5.44	6.28	5.51	5.78	7.33	7.89
8	4.04	4.33	4.09	4.21	4.27	4.08	4.76	5.42	5.12	6.37	5.61	6.21	7.27	7.12
9	4.72	5.01	4.24	4.37	4.38	3.87	4.91	5.87	5.99	5.59	6.04	5.88	7.65	7.08
10	4.64	5.22	4.51	4.59	4.56	4.14	5.37	5.49	4.17	6.21	6.29	6.11	7.43	7.35
$\bar{x}$	4.70	4.53	4.36	4.30	4.34	4.14	4.93	5.25	5.56	5.77	5.45	5.87	7.21	7.24
s	± 0.109	± 0.343	± 0.171	± 0.166	± 0.418	± 0.328	± 0.345	± 0.435	± 0.410	± 0.511	± 0.502	± 0.189	± 0.457	± 0.398
t	1.0023		0.0076		1.1774		1.7762		1.0193		2.4793		0.1009	

Signifikante Differenzen lassen sich bei den pH-Werten von beimpften und nicht beimpften Embryonen im Eiweiß am 11. Tag, sowie in Kropf und Duodenum am 14. Tag nachweisen.

Tabelle 24 zeigt die pH-Werte in verschiedenen Abschnitten des Digestionstraktes in Abhängigkeit vom Alter der Embryonen. Die angegebenen Werte stellen den Mittelwert dar.

Tabelle 24

pH-Werte in verschiedenen Abschnitten des Digestionstraktes und des Eiweißes in Abhängigkeit vom Alter der Embryonen

	Infizierte Embr.			Kontrolleembr.		
	11. T.	14. T.	19. T.	11. T.	14. T.	19. T.
Kropf	-	4,8	4,7	-	6,2	4,8
Drüsmagen	6,6	5,0	4,4	6,8	5,2	4,3
Muskelm.	5,7	5,0	4,3	5,9	5,2	4,1
Duodenum	-	4,7	5,0	-	5,5	5,3
Jejunum	-	-	5,6	-	-	5,8
Caecum	-	-	5,5	-	-	5,9
Eiweiß	7,3	7,5	7,2	7,9	7,7	7,2

Mit fortschreitendem Alter tritt in den Abschnitten des vorderen Verdauungstraktes eine zunehmende Säuerung auf. Sie ist bei den infizierten Tieren stärker ausgeprägt als bei den nicht infizierten. Das Eiweiß der Kontrollembryonen weist am 11. Bebrütungstag mit pH 7,9 den hochsignifikant höheren Wert auf als die infizierten mit pH 7,3. Bis zum 19. Tag werden die pH-Unterschiede vollständig ausgeglichen. Der scheinbare pH-Wert-Anstieg am 14. Tag in der infizierten Gruppe ist nicht signifikant.

D i s k u s s i o n

Bei der vorliegenden Arbeit sollte festgestellt werden, in welchen Organen die Salmonellen im Embryo während der Bebrütungszeit abgesiedelt werden, und welche Bedeutung dies für das postnatale Leben hat.

Die von GERLACH et al. (1968) für das Putenei ermittelte Infektionsdosis von 7 - 20 lebensfähigen Arizona-Keimen bei experimenteller Infektion in die Luftkammer hat sich auch für den hier verwendeten *S. typhimurium*-Stamm als brauchbar erwiesen. Die Infektion kam bei 39% zum Haften, 23% der Embryonen überlebten diese Infektion bis zum 19. Tag. Bei so niedrigen Keimzahlen scheint der Embryo eine Chance zu haben, trotz Infektion zu schlüpfen.

Die in der zugänglichen Literatur beschriebenen Versuche beziehen sich ausschließlich auf Dottersackinjektionen. Bei dieser Infektionsroute sterben die Embryonen auch bei Verwendung von nur 3 - 5 - 10 Keimen pro Ei 100%ig ab. (VIAENE et al. 1965 und ALBRECHT 1968).

Die experimentelle Infektion in die Luftkammer entspricht als Modell der sogenannten sekundären Einfeldinfektion (MEISSNER & KOSER 1934). Da es neben einer erhöhten Embryonalsterblichkeit zu einem Überleben von ca. 23% der befruchteten infizierten Eier gekommen ist, kann angenommen werden, daß dieses Modell die natürlichen Verhältnisse imitiert. Auch unter Feldverhältnissen ist die embryonale Mortalität erhöht und die Schlupfrate deutlich vermindert. (GRAHAM & MICHAEL 1936).

Als Hauptlokalisationsort der Salmonellen im 19 Tage alten bebrüteten Embryo erweist sich nach Injektion in die Luftkammer der Verdauungstrakt. Die Ergebnisse zeigen, daß der Embryo bis zum 11. Inkubationstag salmonellenfrei ist, während nach dem Beginn des Abschluckens von Weißer der Erreger am 14. Tag ausschließlich in Kropf und Drüsenmagen

nachweisbar ist. Dies läßt den Schluß zu, daß nach sekundärer Infektion die Salmonellen bis zum 12. oder 13. Bebrütungstag zunächst im Weißei überleben. (Ob sie sich möglicherweise dort langsam vermehren, wurde nicht untersucht). Der Embryo selbst kommt bei dem gewählten Infektionsweg jedoch offenbar erst durch die orale Aufnahme von Eiklar mit dem Keim in Berührung. Das stimmt nicht überein mit den Untersuchungen von FÜRST (1935), der zeigen konnte, daß eiübertragene Salmonellen (*S. pullorum*) hämatogen - vom Dotter ausgehend - den Embryo infizieren. In diesem Fall kam es zu einem gehäuften embryonalen Tod.

Die pH-Wertmessung der verschiedenen Abschnitte des Verdauungstraktes zeigt, daß dort im Embryo, vermutlich funktionell bedingt, der pH-Wert wesentlich höher liegt als im postnatalen Leben.

Unterstützt wird diese Ansicht von ROMANOFF (1962) und TONER (1965), die angeben, daß sich die Funktion der Proventrikulusdrüsen erst mit dem Abschlucken von Weißei einstellt und damit die Voraussetzungen für eine Veränderung des pH-Wertes vom neutralen zum sauren Milieu im Drüsenmagen gegeben ist. Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen, daß nach Abschlucken des Weißeis der pH-Wert im Drüsenmagen zum sauren Milieu hin verändert wird. Das Überraschende ist, daß die Säuerung beim infizierten Embryo statistisch signifikant stärker ist, als beim nichtinfizierten. Eine Erklärung hierfür kann nicht gegeben werden, wenn auch die Tatsache Erwähnung verdient, daß bereits das Eiweiß der infizierten Embryonen am 11. Bebrütungstag niedrigere pH-Werte aufweist, als das der nicht infizierten Kontrollen. Die Befunde bestätigen in gewisser Weise die Ergebnisse von LERCHE (1957), der eine Erniedrigung des pH-Wertes von Eiweiß in salmonelleninfizierten Eiern feststellte.

Wie die in vitro Versuche zeigen, sind der Grenzwert der Säuretoleranz des verwendeten Ausgangsstammes und die gemessenen pH-Werte im Drüsenmagen annähernd identisch, d.h. bei einem pH von 4,3 ist eine Vermehrung des Stammes zwar noch möglich, die Vermehrungsrate jedoch bereits stark eingeschränkt. Soweit Schlüsse auf die Verhältnisse in vivo erlaubt sind, kann angenommen werden, daß unter den gegebenen Bedingungen im Darm der infizierten Embryonen kein optimales Milieu für die Vermehrung von *S. typhimurium* vorliegt.

Erwähnenswert ist auch die Tatsache, daß die Infektion erst nach Abschluß der Organogenese eintritt. Im letzten Drittel der Embryonalentwicklung dürften dann zusätzlich celluläre Abwehrmechanismen zum Tragen kommen, wie Phagozytose der embryonalen Leukozyten (TAKEUCHI & SPRINZ 1967), während Immunprozesse von untergeordneter Rolle sind. Auf jeden Fall entsteht ein gewisses Wirt-Erreger-Gleichgewicht, das ein Überleben des Embryos ermöglicht. Da am 19. Inkubationstag bereits die für das Küken sehr energieaufwendige Vorbereitung zum Schlupf in Gang gekommen ist (Umdrehen, Einziehen des Dottersackes etc.) erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß zu diesem Zeitpunkt dieses eingespielte Gleichgewicht zugunsten des Erregers verschoben wird. Dafür sprechen die 26% Bakteriämiefälle zu diesem Zeitpunkt.

Wie aus der Gruppe der Embryonen mit Organabsiedelung (Milz, Lunge) ersichtlich ist, gibt es offensichtlich ab dem 14. Tag der Embryonalentwicklung für die Salmonellen die Möglichkeit zu generalisieren. Bei der Mehrzahl der infizierten Embryonen bleiben die Keimzahlen jedoch während der ganzen Entwicklungszeit niedrig. Ein Hinweis dafür ist, daß der Salmonellennachweis mit Ausnahme der Bakteriämiefälle nur nach Anreicherung gelingt.

Die Transformation von Salmonellen in die als wenig pathogen geltende L-Form kommt zwar gelegentlich vor, sie ist

Jedoch für die Überlebensfähigkeit des infizierten Embryos nicht von entscheidender Bedeutung.

Die vorliegende Untersuchung hat gezeigt, daß geringe Zahlen eines pathogenen *S. typhimurium*-Stammes einen sich normal entwickelnden Embryo nicht regelmäßig abtöten, sondern daß es bei den überlebenden Individuen zu einer gegenseitigen Tolerierung kommt. Das Wirtssystem reagiert mit Säurebildung, das bakterielle System paßt sich dem an, vermutlich unter Reduktion der Vermehrungsrate. Es ist sicher, daß daneben eine Vielzahl anderer Faktoren eine Rolle spielt, wie zum Beispiel der Lysozymgehalt des Eiklars bei Brutbeginn, die Phagozytosefähigkeit der embryonalen Leukozyten etc.

Da die Salmonellen an die mehr sauren Verhältnisse des oberen Digestionstraktes angepaßt sind, können sie auch nach dem Schlupf dessen keimreduzierende Wirkung überleben. Sie sind vor der Darmerstbesiedelung vorhanden und können sich im Kampf der verschiedenen Anteile der sich aufbauenden Darmflora behaupten und werden so ein integrierter Bestandteil derselben. Das erklärt ihre langanhaltende Persistenz.

Z u s a m m e n f a s s u n g

In vorliegender Arbeit wurden 436 spezifisch pathogenfreie Bruteier experimentell mit *S. typhimurium* (ca. 10 Keime/Ei) in die Luftkammer infiziert. Die gewählte Infektionsroute entspricht als Modell der sogenannten sekundären Eiübertragung.

Untersuchungen von 11 und 14 tägigen Embryonen ergaben, daß die Salmonellen nach der Infektion im Weißei überleben und erst um den 12. und 13. Bruttag mit dem Abschlucken des Weißeis durch den Embryo oral aufgenommen werden und diesen infizieren.

Bei 100 am 19. Tag überlebenden Embryonen konnte *S. typhimurium* im Verdauungstrakt in 42%, gefolgt von Leber in 8% und Niere, Milz und Lunge mit jeweils 3% der Fälle isoliert werden. 26% der Embryonen waren bakteriämisch, bei 32% war ein Salmonellennachweis nicht mehr möglich. Auffallend ist, daß die meisten Salmonellenfunde im vorderen Teil des Digestionstraktes vorkommen. pH-Wert-Messungen der verschiedenen Teile des Verdauungstraktes zeigten bei 11, 14 und 19 Tage alten Embryonen einen höheren pH-Wert als im erwachsenen Huhn, jedoch trat - vermutlich funktionell bedingt - bei fortschreitendem Alter der Tiere eine zunehmende Säuerung ein, die bei den infizierten Embryonen signifikant stärker ausgeprägt war als bei den Kontrollen. Eine Erklärung hierzu konnte nicht gefunden werden.

Es hat sich gezeigt, daß es bei geringen Keimzahlen von *S. typhimurium* zu einem Gleichgewicht von Erreger und Wirt kommt. Vermutlich unter Reduktion der Vermehrungsrate paßt sich der Erreger der Säurebildung des Wirtsystems an.

Eine Transformation der Salmonellen in die wenig pathogene L-Form ist für infizierte Hühnerembryonen nicht von entscheidender Bedeutung.

Summary

In this investigation 436 specific pathogene free eggs were experimentally infected with *S. typhimurium* (about 10 organisms/egg). The chosen route of infection corresponds as a model to the so-called secondary egg transmission.

The testing of 11 and 14 day old embryos showed that after infection the *Salmonellae* can survive in the albumen. Not earlier than round the 12th and 13th day of incubation they are orally taken up by the embryo at starting swallowing up albumen at that stage of development.

S. typhimurium was isolated out of 100 embryos surviving up to the 19th day of incubation. It was found in the digestive tract (42%), liver (8%) and kidney, spleen, and lungs (3% each). 26% of the embryos showed bacteremia. In 32% of the embryos *S. typhimurium* could not be proven. The fact that most of the isolates were found in the upper part of the digestive tract should be mentioned as striking. Determinations of the pH value in different parts of the digestive tract of 11 and 14 day old embryos revealed a higher pH than in adult hens. With further development of the embryos, however, - perhaps due to increasing function - acidity increased, too, which was more significantly marked in the infected embryos than in the controls. A reasonable explanation is still missing.

It was found that an equilibrium could be established between the microorganisms and their host. Granted only few numbers of *S. typhimurium* are present to begin with. The microorganism adapts to the increased formation of acidity in the host probably simultaneously decreasing its rate of multiplication.

The transformation of *Salmonellae* into the rather low pathogene I-form is of no decisive importance for chick embryos.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

Adler H.E. (1965)

Salmonella in eggs - an appraisal.

Food Techn. 19, 191 - 192

Albrecht M. (1968)

Ein Beitrag zur Pathogenese des intraovariellen Absterbens
bzw. schlechten Schlupfes oder des akuten Krankheitsver-
laufs in den ersten drei Tagen bei der Salmonella -
Pullorum Infektion der Hühnerküken.

Vet. Med. Diss. Leipzig

Anderson E.S. (1964)

The phage typing of Salmonellae other than Salmonella typhi.
in: The world problem of Salmonellosis

Van Oye E.,

Dr. W. Junk, The Hague

Banwart G.F. & J.C. Ayres (1956)

The effect of pH on the growth of Salmonellae and
functional properties of liquid egg white.

Food Techn. 11, 244 - 246

Beaudette F.R., L.D. Bushnell & L.F. Payne (1923)

Relation of bacteria Pullorum to hatchability of eggs.

J. Inf. Dis. 33, 331 - 337

Becker W. (1960)

Beitrag zur Geflügelsalmonellose.

Zbl. Vet. Med. 7, 226 - 229

Bigland C.H. & G. Papas (1953)

Experiment in egg penetration by Salmonella.

Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 17, 105 - 109

Flaxland J.D. & A.J. Blowers (1951)

Salmonella typhimurium infection in duck eggs as a source of human food poisoning.

Vet. Rec. 63, 56 - 59

Plount W.F. (1937)

Some diseases of the digestive tract, including a note of food paralysis.

Vet. Rec. 49, 1074 - 1087

Board R.C. (1966)

Review article: the course of microbial infection of the hens' egg.

J. Appl. Bact. 29, 319 - 341

Boev B. & T. Stamatov (1967)

Wild birds as Salmonellae carriers.

Vet. Sci. 4, 19 - 24

Brown W.E., R.C. Baker & H.B. Naylor (1965a)

Comparative susceptibility of chicken, duck and turkey eggs to microbial invasion.

J. Food Sci. 30, 886 - 892

Brown W.E., R.C. Baker & H.B. Naylor (1965b)

The role of the inner shell membrane in bacterial penetration of chicken eggs.

Poultry Sci. 44, 1323 - 1327

Brownell J.R., W.W. Sadler & M.F. Fanelli (1969)

Factors influencing the intestinal infection of chickens with Salmonella typhimurium.

Avian Dis. 13, 804 - 816

Buckner G.D., W.M. Insko jun. & A.H. Henry (1944)

Does breed, age, sex or laying conditions affect the pH of the digestive system of chickens?

Poultry Sci. 23, 457 - 458

Bulling E. (1963)

Verbreitung und Bedeutung der Tiersalmonellose in der BRD
Abh. Vet. Med. B, 10, 216 - 225

Burr W.E. & C.F. Helmboldt (1962)

Salmonella species contaminants in three animal by-products.
Avian Dis. 6, 441 - 443

Buxton A. & R.F. Gordon (1947)

The epidemiology and control of Salmonella thompson infection
of fowls.

J. Hyg. 45, 265 - 281

Chase F.F. (1947)

The occurrence and distribution of Salmonella types in fowl.
II. Studies of artificial Salmonella bareilly and Salmonella
oranienburg infections in hens.

Can. J. Res. 25, 316 - 325

Cherrington V.A., E.M. Gildow & P. Moore (1927)

Paratyphoid in turkeys.

Poultry Sci. 16, 226 - 231

Clarenburg A. (1939)

Paratyphoid in ducks in relation to public health.

Proc. 7th World's Poultry Congress 233 - 236

Clarenburg A. (1961)

Die Epidemiologie der Salmonellose bei Mensch und Tier.

Wien. tierärztl. Mschr. 6, 339 - 348

Collip J.B. (1922)

The activation of the glandular stomach of the fowl.

Am. J. Physiol. 59, 435 - 438

Costin I.D. (1968)

Die biochemische Identifikation der Enterobacteriaceae.
Kritische Bemerkungen zu Prinzipien und Methoden.
Zbl. Bakt. I Ref. 219, 767 - 837

Cox N.A., B.H. Davies, A.R. Walls & A.R. Collier (1972)

Salmonella in the laying hen
2. The effect of stimulated digestive tract pH levels on
the survival of three species of Salmonella.
Poultry Sci. 4, 1266 - 1270

Csiszar V., S. Pusztai, J. Takacs & L. Tamas (1965)

Oral parenterale exklusiv pharyngo - tonsilläre Infektions -
versuche mit Typhimurium an einigen Haustierarten.
Arch. Lebensmittelhyg. 7, 145 - 147

Dalling T., J.H. Mason & W.S. Gordon (1927)

Bazillary white diarrhea of chicks.
Vet.J. 83, 555 - 565

Dalling T. & G.A. Warrack (1932)

Ducks and Salmonella infection.
J. Path. Bact. 35, 655 ff

Dernby G.K. (1921)

La concentration optimale in ions hydronene et le development
de certains micro - organisms.
Ann. de l'Institut Pasteur 35, 277 ff

Dierks H. (1938)

Verlauf von Enteritis - Breslau - Infektionen bei natür -
lich und künstlich infizierten Enten.
Vet. Med. Diss. Hannover

Dumjahn G. & G. Seidel (1959)

Gesundheitsgefahren durch salmonelleninfizierte Ei - Er -
zeugnisse.
Dtsch. Gesundheitsw. 14, 2239 - 2257

Eberhard H. (1948)

Wasserstoffionenkonzentration im Darmkanal gesunder und kranker Hühner mit besonderer Berücksichtigung der Geflügelzähne.

Vet. Med. Diss. Hannover

Elliot L.E. & A.W. Brant (1957)

Effect of saline and eggshell membrane on bacterial growth.
Food Res. 22, 241 - 248

Englert A.K., K. Haas, J. Schneider & M. Schnetter (1967)

Eine enzootisch auftretende Salmonellose unter den Singvögeln in Baden.

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 14, 277 - 279

Esche van der P. & M. Handloser (1958)

Zur Frage der Verbreitung von Salmonellen durch Eiernereier.
Zschr. Hyg. 145, 304 - 319

Farner D.S. (1942)

The hydrogen ion concentration in avian digestive tracts.
Poultry Sci. 22, 445 - 450

Florian M.L.E. & P.C. Trussell (1957)

Bacterial spoilage of shell eggs
IV. Identification of spoilage eggs.
Food Res. 11, 56 ff

Forsythe R.H., W.J. Ross & J.C. Ayres (1967)

Salmonellae recovery following gastro - intestinal and ovarian inoculation in the domestic fowl.
Poultry Sci. 46, 849 - 855

Fromm D. (1959)

A rapid method of the determination of egg shell permeability.
Poultry Sci. 38, 171 - 173

Fürst W. (1935)

Beiträge zur Kenntnis der bei der Kükenruhr während der embryonalen Entwicklung auftretenden pathologisch - anatomischen und pathologisch - histologischen Veränderungen.
Vet. Med. Diss. Berlin

Garibaldi J.A. & J.L. Stokes (1957)

The protective role of shell membranes and albumen in the microbial spoilage of eggs.

Poultry Sci. 36, 1120 - 1121

Garibaldi J.A. & J.L. Stokes (1958)

Protective role of shell membranes in bacterial spoilage of eggs.

Food Res. 23, 283 - 290

Jauger H.C. & R.E. Greaves (1946)

Bacterial contamination of shells and contents of eggs laid by turkeys naturally and artificially infected with *Salmonella typhimurium*.

Poultry Sci. 25, 119 - 123

Gerlach H. (1969)

Bruthygiene beim Geflügel.

Wien. tierärztl. Mschr. 3, 120 - 126

Gerlach H. (1971)

Verlauf von Salmonelleninfektion bei Hühnerküken.

Arch. Geflügelk. 3, 102 - 104

Gerlach H., H.E. Adler & A.S. Rosenwald (1968)

Research note: Observations on immune factors associated with Arizona group infections in turkeys.

Avian Dis. 12, 681 - 686

Gibbons N.E. & R.E. Moore (1946)

A note on artificially infected fowl as carriers of *Salmonella*.

Poultry Sci. 25, 115 - 118

Gillespie J.M. & W.J. Scott (1950)

Studies in the preservation of shell eggs

IV. Experiments in the mode of infection by bacteria.

Austr. J. Appl. Sci. 1, 514 - 530

Gordon R.F. (1952)

zit. n.

Knothe H. & F. Budach (1952)

Gordon R.F. & J.F. Tucker (1965)

The epizootology of *Salmonella menston* of fowls and the effect of feeding poultry food artificially infected with *Salmonella*.

Brit. Poultry Sci. 6, 251 - 264

Podzeski G.W., G. Erier & J.O. Farran (1966)

The interaction of antibiotics, bacteria, and the bacterial I - phase in vivo.

2. Conference in Biology of the Mycoplasmas

New York, Academy of Sciences

Graham R. & V.M. Michael (1936)

Studies on incubator hygiene

V. A note on the hatchability of eggs inoculated with *Salmonella*, *Pasteurella*, *Staphylococci* and *Streptococci*.

Poultry Sci. 15, 23 - 27

Greenfield J., C.H. England & F.W. Dukes (1971)

The genus *Arizona* with special reference to *Arizona* disease in turkeys.

Vet. Bull. 41, 605 - 612

Gregory R. (1948)

Salmonella infection of turkey eggs.

J. Hyg. 27, 359 - 366

Haines R.B. (1939)

zit. n.

Hartung T.E. & W. Stadelman (1963)

Haines H.B. & T. Moran (1940)

Porosity of shell, and bacterial invasion through the shell of the hen's egg.

J. Hyg. 40, 453 ff

Hartung T.E. & W.J. Stadelman (1962)

The influence of metallic cations on the penetration of the egg shell membrane by *Pseudomonas fluorescens*.

Poultry Sci. 41, 1590 - 1596

Hartung T.E. & W.J. Stadelman (1963)

Pseudomonas fluorescens penetration of egg shell membranes as influenced by shell porosity, age of egg and degree of bacterial challenge.

Poultry Sci. 42, 147 - 150

Heller V.G. & R. Fenquite (1936)

Effect of minerals and fiber on avian intestinal pH.

Poultry Sci. 15, 397 - 399

Henderson W., J. Ostendorf, J.R. & G.L. Morehouse (1959)

The relative pathogenicity of some *Salmonella* serotypes for chicks.

Avian Dis. 4, 103 - 109

Hijmans W., C. Van Roven & H. Glasener (1969)

Fundamental biology of the L - phase of bacteria.

in Hayflick L. (1969)

The Mycoplasmatiales and the L - phase of bacteria

North - Holland publishing Company - Amsterdam

Hinshaw W.R. & E. Mc. Neill (1943)

Salmonella newington infection in turkeys.

Poultry Sci. 22, 415 - 420

Hole N. (1932)

Salmonella infection in ducklings.

J. Comp. Path. Therap. 45, 161 - 171

- 66 -

Hungenford T.G. (1960)
Diseases of poultry
Booth and Son PTY, LTD Sidney
1st. Edition

Hüttner B. (1973)
Versuche zur Bruteibegasung mit Formalin.
Tierärztl. Umsch. 1, 20 - 26

Jerstad A.C. (1964)
Isolation of Mycoplasma gallisepticum from fresh eggs and blood.
Avian Dis. 8, 36 - 39

Karlshøj K. & L. Szabo (1949)
Salmonella - infection in duck eggs.
Am. J. Vet. Res. 10, 388 - 392

Kauffmann F. (1966a)
The bacteriology of Enterobacteriaceae.
Scandinavian University Books
Munksgaard

Kauffmann F. (1966b)
Zur Geschichte der Salmonellen - Forschung.
Zbl. Bakt. I Orig. 201, 44 - 48

Kaufmann A.F. (1966)
Pets and Salmonella infection.
J. Am. Vet. Ass. 149, 1655 - 1661

Kellner W. (1956)
Untersuchungen zur symbiontischen Bedeutung der Blinddarm - flora der Nagetiere.
Zschr. Morph. u. Okol. d. Tiere 44, 518 - 554

Kintner T.C. & M. Mangel (1953)

Survival of *Staphylococci* and *Salmonellae* experimentally inoculated into salad dressing prepared with dried eggs.
Food Res. 18, 6 - 10

Klose H.F., H. Knothe & F. Steininger (1952)

Die epidemiologische und lebensmittelhygienische Bedeutung des Keimträgertums von *Paratyphus B* und anderen *Salmonellen* bei wildlebenden Vögeln.

Arztl. Wschr. 7, 824 - 829

Knothe H. & F. Budach (1952)

Bakteriologische Untersuchungen der Enteneier.

Arch. Hyg. 136, 573 - 577

Kösters J. & M. Scheer (1967)

Eine Salmonellose unter wildlebenden Finkenvögeln.

Tierärztl. Umsch. 22, 66 - 71

Kraft A.A., E.H. Mc. Nally & A.W. Brant (1958)

Shell quality and bacterial infection of shell eggs.

Poultry Sci. 37, 638 - 644

Krauss H.U. & H.J. Hapke (1963)

Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der Salmonellose.

Arch. Lebensmittelk. 14, 186 - 190

Lancaster L. & G. Crabb (1953)

zit. n.

Riester E. & L.H. Schwarte (1972)

Diseases of poultry

The Iowa State University Press, Ames

VI. edition

Lang K. (1958)

Die Entstehungswege bakterieller Fleisch - und Lebensmittel - vergiftungen.

Dtsch. tierärztl. Wschr 16, 443 - 447

- Igg T.D., G. Holm & J. Murray (1936)
Paratyphoid in turkeys.
J. Am. Vet. Med. Ass. 89, 65 - 76
- Lerche M. (1957)
Über die Abtötung von Salmonellen in Weibei.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 436 - 438
- Lifshitz A. & R.C. Baker (1964)
Some physical properties of the egg shell membranes in relation to their resistance to bacterial penetration.
Poultry Sci. 43, 527 - 528
- Lifshitz A., R.C. Baker & H.D. Naylor (1965)
The exterior structures of the egg as nutrients for bacteria.
J. Food Sci. 30, 516 - 519
- Lukas T.E., M.C. Aumer, S.H. Allevan & B.S. Pommeroy (1970)
Antibiotic treatment of turkey hatching eggs preinfected with Salmonella.
Avian Dis. 14, 455 - 462
- Masshoff W. & H.J. Stolpmann (1961)
Licht - und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Schalenhaut und Kalkschale der Hühnereier.
Zschr. Zellf. 55, 818 - 832
- Mayhew R.L. (1935)
The pH of the digestive tract of the fowl.
J. Am. Vet. Med. Ass. 86, 148 - 152
- Mc Gaushey C.A. (1932)
Bacteria of the enteric group among poultry.
Brit. Vet. J. 88, 16 - 26
- Mc Laughlin A.R. (1931)
pH of the alimentary tracts of fowl, cat, and Rabbit.
Sci. 73, 191 - 192

Jenner A. (1968)

Das Buch vom Huhn.

Verlag Eugen Ulmer - Stuttgart

Melner D.B. & E.J. Bennett (1965)

Salmonella derby contamination of eggs from inoculated hens.

J. Food Sci. 30, 333 - 336

Meynell G.G. (1963)

Antibacterial mechanisms of the mouse gut

II. The role of EH and volatile fatty acids in the normal gut.

Brit. J. Exp. Path. 44, 209 - 219

Meynell G.G. & T.V. Subbiah (1963)

Antibacterial mechanisms of the mouse gut

I. Kinetics of infection by Salmonella typhimurium in normal and Streptomycin - treated mice studied with abortive transductants.

Brit. J. Exp. Path. 44, 197 - 208

Miller A. & L.B. Crawford (1953)

Some factors influencing bacterial penetration of eggs.

Poultry Sci. 32, 303 - 309

Miesner H. & A. Köser (1934)

Enten- und Lebensmittelvergiftung.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 9, 717 - 720

Mitrovic T. (1956)

First report of paratyphoid infection in turkey poultts due to Salmonella reading.

Poultry Sci. 35, 171 -174

Mundt J.C. & R.L. Tugwell (1958)

The relationship of the chicken egg to selected paratyphoids.

Poultry Sci. 37, 415 - 420

Russell F.E., M.J. Blish & J. W. Ackerson (1932)

Effect of dietary and environment on the pH of the intestinal tract.

Poultry Sci. 11, 120 - 123

Nilson R.B. (1960)

Salmonella typhimurium carriers in sea gulls and mallards as a possible source of infection to domestic animals.

Nord. Vet. Med. 12, 417 - 424

Ono T., E.Kato, S.T. Lee, S. Hamada & K. Hirato (1953)

Studies on chick Salmonellosis"

I. Bacteriological observations on dead embryos and brooding chicks.

Vet. Res. 1, 61 - 66

Orskow J. & A.K. Kobayashi (1928)

zit. n.

Ralovich B. & K. Rauss (1969)

Peter A. (196)

Beobachtungen über parenterales Auftreten oral verabfolgter Fütterungsapathogener Mikroorganismen.

Zbl. Bakt. I Orig. 201, 85 - 90

Philbrook F.R., R.A. McCready, H. van Roekel, E.S. Anderson, C.F. Smyser, F.J. Sauer & W.M. Gorton (1960)

Salmonellosis spread by a dietary supplement of avian source.

J. Med. 263, 713 - 718

Pietsch O. (1970)

Vorkommen von Salmonellen - Infektionen bei Tieren, Lebens - und Futtermitteln tierischer Herkunft in der BRD.

Zbl. Bakt. I Ref. 222, 197 - 205

Pietzsch O. & E. Bulling (1973)

Verbreitung der Salmonella - Infektionen bei Tieren,
tierischen Lebensmitteln und Futtermitteln in der Bundes -
republik einschließlich Berlin (West).

Bundesgesundheitsbl. 16, 194 - 201

Pommeroy B.S. & R. Fenstermacher (1939)

Paratyphoid infections of turkeys.

J. Am. Vet. Med. Ass. 94, 90 - 97

Halovich B. (1968a)

Beitrag zur Messung der Virulenz von Salmonella - Stämmen.

Zbl. Bakt. I Orig. 209, 25 - 31

Halovich B. (1968b)

Über die Probleme der sogenannten Salmonella - Nahrungs -
mittelvergiftung.

Zbl. Bakt. I Orig. 208, 407 - 417

Halovich B. & K. Hauss (1969)

Das Schicksal der Maus - avirulenten Salmonellen bei oraler
Verabreichung.

Zbl. Bakt. I Orig. 211, 315 - 324

Reinke W.C. & R.C. Baker (1965)

Relationship between carbon dioxide permeability and bacterial
penetration in chicken egg shell models.

Poultry Sci. 45, 1322 - 1324

Romankewisch I. (1934)

Das Kutikulum des Hühnereis.

Zschr. Zellf. 21, 110 ff

Romanoff A.I. & A.J. Romanoff (1949)

The avian egg

John Wiley and Son Inc., New York

Chapman and Hall, London Ltd.

Romanoff A.J. (1962)

The avian embryo

Structural and functional development

The Macmillan Company New York

Sato G., T. Miyamae, S. Miura & K. Suzuki (1955)

Occurrence of Salmonella new brunswick in dead chick embryos.

Jap. J. Vet. Res. 3, 111 - 112

Sato G., T. Miyamae, S. Miura & K. Suzuki (1956)

Salmonella types in dead chick embryos with special reference to the incidence of S. potsdam.

Jap. J. Vet. Res. 4, 44 - 45

Sato G., S. Miura, T. Miyamae, M. Nayakagawa & A. Ito (1961)

Characters of Staphylococci isolated from dead chick embryos and from pathological conditions in chickens.

Jap. J. Vet. Res. 9, 1 - 13

Schaaf J. (1933)

Die infektiöse Enteritis der Enten.

Zbl. Bakt. I Orig. 128, 519 ff

Schmidt W.J. (1957)

Schraubiger Faserverlauf in der Schalenhaut des Voreleis.

J. Ornith. 98, 432 - 440

Schönberg F. (1935)

Über die Infektion von Enteneiern mit Breslau - Bakterien vom Eileiter aus.

Berl. tierärztl. Wschr. 51, 474 - 476

Schneider J. & E. Bulling (1969)

Weitere Untersuchungen zur Salmonellose der Singvögel.

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 15, 287 - 288

- 2 -
Schwarz R. (1969)

Eileiter und Ei von Hühn

Die Wechselbeziehungen von Morphologie und Funktion bei
Gegenüberstellung von Sekretionsorgan und Sekretionsprodukt.
Zbl. Vet. Med. A 16, 64 - 136

Schwarz R. & K. Neurand (1972)

Die Bedeutung der Schalenhautmorphologie in Entenei für
eine Besiedelung mit Salmonellen.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 431 - 440

Sharp P.F. (1937)

Preservation and storage of hens' eggs.

Food Res. 2, 477 - 488

Simkiss K. (1961)

Calcium metabolism and avian reproduction.

Biol. Rev. 36, 321 - 367

Simons P.C.M. & G. Wiertz (1963)

Notes on the structure of membranes and shell in the hens'
egg.

Zschr. Zellf. 59, 555 - 567

Smyser C.F. & H. Van Roekel (1959)

Detection of Salmonella typhimurium infection in an egg
Producing chicken flock.

Avian Dis. 3, 485 Abstracts

Snoevenbos G.H., E.W. Moris & D. K. Wetherbee (1967)

Naturally occurring Salmonella in blackbirds and gulls.

Avian Dis. 11, 642 - 646

Snoevenbos G.H., C.F. Smyser & H. Van Roekel (1969)

Research note - Salmonellae infections of the ovary and
penetration of chickens.

Avian Dis. 13, 668 - 670

Soloway M.E., E.H. Spaulding & H.E. Goresline (1946)
An investigation of the source and mode of entry of
Salmonella organism in spray - dried whole -egg - powder.
Food Res. 11, 380 - 390

Soloway M.E., W.H. Mc Farlane, E.H. Spaulding & C. Chamerda
(1947)

Microbial of spray dried shell egg
II. Incidence and types of Salmonellae.
Am. J. Public Health 37, 971 - 982

Stephens J.F. & E.L. Anderson (1967)
Growth of Salmonella in chickens' yolk sacs and its
relationship to pathogenicity.
Appl. Microb. 15, 1468 - 1472

Stellmacher W. (1963)
Zur Salmonellen - Bekämpfung
III. Salmonellen - Beifütterung an Schnellmastenten.
Arch. Exp. Vet. Med. 17, 691 - 695

Stellmacher W. (1963)
Zur Salmonellen - Bekämpfung
IV. Salmonellen - Beifütterung an Junstmasthühner.
Arch. Exp. Vet. Med. 17, 697 - 701

Steward I.S. & E.H. Mc Nally (1943)
zit. n.
Garibaldi J.A. & J.L. Stokes (1958)

Stokes J.L. & W.W. Osborne (1956)
Effect of the shell membrane on bacteria.
Food Res. 21, 264 ff

Stokes J.L., W.W. Osborne & H.G. Payne (1956)
Penetration and growth of Salmonella in shell eggs.
J. Food Sci. 21, 510 - 518

Takeuchi A. (1967)

Electron microscope studies of experimental Salmonella infection

I. Penetration into the intestinal epithelium by Salmonella typhimurium.

Am. J. Path. 50, 100 - 136

Takeuchi A. & H. Springz (1967)

Electron microscope studies of experimental Salmonella infection in the pre-conditionated guinea pigs.

II. Response of the intestinal mucosa to the invasion by S. typhimurium.

Am. J. Path. 51, 137 - 161

Taylor J. (1967)

Salmonellosis: the present position in man and animals.

II. Public Health Aspects

Vet. Rec. 80, 147 - 154

Toner F.G. (1965)

Development of the acid secretory potentials in the chick embryo proventriculus.

J. Anat. 99, 389 - 398

Vestal O.H. & J. F. Stephan (1966)

The relative pathogenicity of selected paratyphoids for chicks.

Avian Dis. 10, 502 - 507

Vlaene N., A. Devos & M. Staelens (1965)

Onderzoek naar het mechanisme van de eioverdraging bij bacteriële infecties

. Dorierenting met Pseudomonas fluorescens en S. pullorum.
Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 34, 385 - 391

- Vonk H.G., G. Drink & N. Postma (1946)
Digestion in the stomach of birds
I. The acidity in the stomach of young chickens.
Proc. K. Nederland Akad. Wetenschap.
Amsterdam 49, 972 ff
Ref. in Biol. Abstr. 20863 (1949)
- Walden C.C., C.C. Allen & P.C. Trussel (1956)
The role of egg shell and shell membrane in restraining
the entry of microorganisms.
Poultry Sci. 35, 1190 - 1196
- Warrack G.H. & T. Dalling (1933)
Salmonella infections in young ducklings and duck eggs.
Brit. Vet. J. 89, 483 - 491
- Weidling H.CH. (1970)
Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen
der Schalenhautstruktur von Vögeleiern (Ente, Huhn und Taube)
im Hinblick auf die mögliche Durchlässigkeit für Salmonellen.
Vet. Med. Diss. Hannover
- Wesselmann A. (1935)
Bakteriologische Untersuchungen von Enteneiern, von mit
Enteneiern hergestellten Lebensmitteln in Zusammenhang
mit Lebensmittelvergiftung beim Menschen.
Inaur. Diss. Berlin
- Williams J.E. (1972)
Paratyphoid infections
in diseases of poultry
Biester H.E. & L.H. Schwarte
Iowa State Univ. Press, Ames
VI. Edition
- Williams J.E. & L.H. Dillard (1968a)
Salmonella penetration of fertile and infertile chicken
eggs at progressive stages of incubation.
Avian Dis. 12, 629 - 635

Williams J.E., L.H. Dillard & G.O. Hall (1968b)

The penetration patterns of *S. typhimurium* through the outer structures of chicken eggs.

Avian Dis. 12, 445 - 466

Williams J.E. & L.H. Dillard (1969)

Salmonella penetration of the outer structures of white - and speckled shell turkey eggs.

Avian Dis. 13, 203 - 210

Wilson J.E. (1948)

Avian Salmonellosis.

Vet. rec. 60, 615 - 624

Wilson J.E. (1950)

The occurrence of *Salmonella typhimurium* in hen eggs and its implications.

Vet. Rec. 62, 449 - 450

Winget C.M., G.C. Ashton & A.J. Cawley (1962)

Changes in gastrointestinal pH associated with fasting in the laying hen.

Poultry Sci. 41, 1115 - 1120

Wisemann R.W., C.A. Bushnell & M.M. Rosenberg (1956)

Effect of ration in the pH and microflora in selected regions of the intestinal tract of chicks.

Poultry Sci. 35, 126 - 132

Wright G.W. & J.F. Frank (1956)

Penetration of eggs by *Salmonella typhimurium*.

Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 20, 453 - 457

Wuthe H.H. (1973)

Salmonellen in einer Brutkolonie von Lachmöven.

Berl. Münch. tierärztl. Mschr. 86, 255 - 256

Wittig P. (1931)

Untersuchungen über die durch das *Bacterium enteriditis*
breslaviense hervorgerufene und mit Gelenkerkrankungen
eiergehende Taubenenzootie.

Inaur. Diss. Gießen

Yoder H.W. jr. (1966)

persönliche Mitteilung

Für die freundliche Überlassung des Themas, die Arbeitsmöglichkeit in ihrem Institut und die großzügige Förderung meiner Arbeit möchte ich Frau Professor Dr. Gylstorff herzlich danken.

Frau Dr. Gerlach danke ich sehr für die hilfreiche Unterstützung und die vielen Anregungen während der Versuche und bei der Auswertung der Ergebnisse.

Auch bei allen Angehörigen des Institutes bedanke ich mich für ihre Freundlichkeit und Hilfsbereitschaft.

L e b e n s l a u f

Am 1. Oktober 1943 wurde ich, Bernd Ochsenhirt, als Sohn des Dr. Heinrich Ochsenhirt und seiner Ehefrau Wally geb. Boczek in Friedberg/Hessen geboren. Nach dem Besuch der Grundschule in Essen trat ich in das dortige Helmholtz - Gymnasium ein. Nach dem Umzug meiner Familie nach Langenberg/Rhl. besuchte ich dort das Städtische Gymnasium, das ich 1966 nach Erlangung der Hochschulreife verließ.

Im Sommersemester 1966 begann ich an der Universität München das Studium der Tiermedizin, das ich im März 1972 mit dem Staatsexamen abschloß.

Von April 1972 bis Oktober 1973 war ich als Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten am Institut für Krankheiten des Haus- und Wildgeflügels der Universität München tätig.



